

Wpływ dimeru lizozymu na wybrane parametry krwi u zdrowych królików

MARIA SZYMONOWICZ

Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów

Wydział Lekarsko-Stomatologiczny Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

W profilaktyce i terapii chorób u ludzi i zwierząt mają znaczenie preparaty pochodzenia naturalnego, wpływające na mechanizmy obronne organizmu. Lizozym jest enzymem biorącym udział w nieswoistej, humoralnej odpowiedzi immunologicznej. Wyodrębniony z białka jaja kurzego wykazuje właściwości lecznicze. Wyższą aktywność biologiczną wykazuje dimer lizozymu.

Celem przeprowadzonych badań była kompleksowa ocena oddziaływania dimeru lizozymu na parametry krwi i morfologię narządów. Do badań użyto dimeru lizozymu (KLP-602), otrzymanego w procesie polimeryzacji cząsteczki lizozymu wyizolowanego z białka jaja kurzego. Badania wykonano na królikach rasy Nowozelandzkiej, którym dimer lizozymu podano dożylnie dwukrotnie w jednorazowych dawkach 0,02 mg/kg m.c., w odstępie 21 dni. Krew pobrano przed iniekcją oraz po I iniekcji (4, 6, 24 h i 3, 7, 21 dobach) i po II iniekcji (4, 24 h i 3, 7 dobach). W krwi oznaczono: RBC, HGB, HCT, wskaźniki czerwonych krwinek MCV, MCH, MCHC oraz WBC i leukogram, stężenie fibrynogenu, czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) i czas protrombinowy (PT), stężenie białka całkowitego, CRP, składnika C3 i C4 układu dopełniacza oraz IgG i IgM, aktywność amylazy, fosfatazy zasadowej, aminotransferazy AST i ALT.

Wyniki badań po iniekcji dimer lizozymu wykazały zmniejszenie RBC, HGB, HCT, odsetka neutrofilii, zwiększenie odsetka limfocytów, MCV, MCH, stężenie białka, IgM i IgG oraz składowej C4 dopełniacza. Natomiast nie stwierdzono

zwiększenia aktywności aminotransferaz. Wykazano zwiększenie stężenia fibrynogenu przy niezmienionych wartościach APTT i PT. Zmiany w wartościach parametrów krwi wystąpiły szybciej po II, niż po I iniekcji. Czas ich trwania był krótszy niż w analogicznym okresie po I iniekcji, a uzyskane wartości pozostawały w zakresie wartości referencyjnych.

Dimer lizozymu wpływa umiarkowanie na reaktywność parametrów czerwonych krwinek, stężenie IgG, IgM i składowej C4 dopełniacza oraz stymuluje limfocyty u zdrowych zwierząt. W badaniach histologicznych narządów wewnętrznych nie stwierdzono zmian o charakterze patologicznym.

Słowa kluczowe: dimer lizozymu, parametry krwi, limfocyty, immunoglobuliny

The influence of lysozyme dimer on chosen parameters of blood in healthy rabbits

Summary

The natural compounds which affect defensive mechanisms of organism are important in prophylaxis and therapy of diseases in human and animals. Lysozyme is an enzyme which originates from chicken egg proteins. It modulates non-specific and humoral immunological mechanisms. A higher bioactivity has a lysozyme dimer.

The aim of study was assessment of influence of the lysozyme dimer on chosen blood parameters, morphology and functions of internal organs and healing processes of experimental wounds in rabbits. Lysozyme dimer (KLP-602) was used obtained process polymerisations enzyme lysozyme from chicken egg white.

The experimental group were on New Zealand White rabbits. Systemic reactions were investigated in animals after two injections of lysozyme dimer in dose 0,02 mg/kg b.w. during 21 days. Blood was collected before and after administration of lysozyme dimer in 4, 6, 24 h and in 3, 7, 21 day after first and in 4, 24 h and 3, 7 day after second injection.

The following parameters were evaluated of red blood cells number (RBC), hemoglobin concentration (HGB), haematocrit value (HCT), red blood cell indices (MCV, MCH, MCHC), white blood cells number (WBC) and leukogram. Total serum proteins, components C3 and C4 of complement, immunoglobulins G and M, concentration were determined in the serum. Activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT) and fibrinogen concentration were evaluated in the plasma. Simultaneously, the activity of alkaline phosphatase, GPT and GOT were assessed.

Administration rabbits with lysozyme dimmer caused slight decrease in RBC number, Hb concentration, HCT and the neutrophils percentage and increase in the lymphocytes percentage. The concentrations of TSP, immunoglobulins, the components of complement were increased too. APTT and PT were normal but the fibrinogen concentration was increased. The activity of GOT and GPT were unchanged. Changes are in range of value normal and step out more quickly after two injection than after first injection. The morphology of organs (liver, lungs, heart and kidneys) was normal.

Key words: lysozyme dimmer, blood parameters, lymphocytes, immunoglobulins

WPROWADZENIE

Lizozym jest enzymem należącym do klasy hydrolaz (E.C.3.2.1.17). Jego pełna nazwa to N-acetylmuramylhydrolaza mukopeptydowa (ang. peptidoglycan N-acetylmuramyl hydrolase), której synonimami są muramidaza, glikohydrolaza mukopeptydowa, 1,4- β -N-acetylmuramidaza. Rozszczepia on wiązanie 1,4- β -glikozydowe pomiędzy kwasem N-acetylmuraminowym a N-acetylo-D-glukozaaminą w peptydoglikanach oraz między N-acetylo-D-glukozaaminą w chitozanie [1-2].

Lizozym jest jednym ze składników nieswoistej, humoralnej odpowiedzi immunologicznej. Występuje zarówno w komórkach roślinnych jak i zwierzęcych (granulocyty, monocyty, makrofagi), w płynach ustrojowych (osocze krwi), wydzielinach (surowiczo-śluzowe, ślina, łzy, mleko) oraz jajach ptaków [3-6]. Lizozym wykazuje działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i przeciwzapalne [3-6]. Właściwości lizozymu zostały wykorzystane w medycynie oraz w przemyśle farmaceutycznym i spożywczym [7-13].

Wprowadzone do leczenia preparaty farmakologiczne, zawierają czysty lizozym, bądź w połączeniu z innymi substancjami. Preparaty te są na bazie lizozymu z białka jaja kurzego. Przy stosowaniu lizozymu pochodzącego z jaja kurzego w medycynie, zwraca się jednak uwagę na to, że jest on dla pacjentów białkiem obcego pochodzenia (alergenem), więc może wywoływać niepożądane reakcje typu nadwrażliwości (alergie) [14]. W badaniach klinicznych lizozym jest przedmiotem oceny jako parametr diagnostyczny, w przebiegu i leczeniu chorób o podłożu bakteryjnym i wirusowym, jako wskaźnik nieswoistej odporności u ludzi i zwierząt [6, 8-10, 15].

Zastosowanie lizozymu w przemyśle spożywczym jest łączone w pierwszym rzędzie z jego aplikacją, jako naturalny środek przedłużający trwałość wyrobów. Stosuje się go jako konserwant do mięsa, ryb i ich produktów, do mleka i wyrobów mlecznych, serów żółtych dojrzewających jak również przetworów owocowych i roślinnych, celem przedłużania czasu ich składowania. Stosowany jest również w procesie oczyszczania wyrobów winiarskich [7, 8, 16, 17].

Pomimo poznania korzystnych właściwości lizozymu i wielu prac doświadczalnych oraz wprowadzenia na rynek preparatów zawierających czysty lizozym lub jego połączenia z innymi środkami farmaceutycznymi, nie uzyskano takich wyników terapeutycznych jakich oczekiwano na podstawie teoretycznych rozwiązań. W naturze lizozym występuje wyłącznie jako monomer. Wiadomo również, że w warunkach naturalnych wiele związków jest aktywnych dopiero pod postacią dimerów lub polimerów, a więc pod postacią struktur powstających w wyniku połączenia się dwu lub wielu identycznych podjednostek. Jako przykład można zacytować immunoglobulinę A, i M, jak również czynnik martwicy nowotworów (TNF). Podstawowym źródłem lizozymu do badań jest monomer z białka jaja kury. Charakterystyczną właściwością lizozymu jest jego zdolność do tworzenia kompleksów z innymi białkami, dając biopolimer. Jedną z form współdziałania białko-białko, jest kompleks z naturalnymi składnikami jaja, takimi jak: z ovomucyną, ovoalbuminą, ovomukoidą i owotransferyną [14, 15, 18, 19]. Inną właściwością lizozymu jest zdolność do łączenia się monomeru, tworząc formy polimeryczne [15, 20–23]. Wykazano, że zasięg działania bakteriostatycznego, bakteriolitycznego i bakteriobójczego lizozymu może być zwiększony przez modyfikację, prowadzącą do zmian w strukturze enzymu, kończącą się wytworzeniem jego polimerycznych form.

Ważnym zagadnieniem podczas badań nad polimerycznymi postaciami lizozymu, była ocena jakości biologicznej oraz ilości otrzymanej dimerycznej formy lizozymu [10, 15, 21]. W badaniach wykazano, że zmodyfikowana forma lizozymu wykazuje silniejsze

bakteriostatyczne działanie w kierunku bakterii Gram-, niż rodzimy lizozym. Również stwierdzono, że zmodyfikowany enzym zachowuje antybakteryjną aktywność w kierunku bakterii Gram+, która to aktywność jest charakterystyczna dla formy monomerycznej lizozymu [3, 5, 6, 10, 15, 20]. Otrzymane wyniki zachęciły do dalszych badań nad przydatnością dimeru lizozymu w praktyce klinicznej, ze szczególnym uwzględnieniem jego właściwości immunomodulujących.

Problem sterowania mechanizmami układu immunologicznego zwierząt i ludzi stał się w ostatnich latach bardzo istotny. Wprowadzenie do leczenia immunomodulatorów, szczególnie pochodzenia naturalnego, budzi wielkie nadzieje na sukcesy w terapii chorób infekcyjnych, chorób o podłożu immunologicznym i chorób nowotworowych. Tym bardziej, że często bywa tak, iż efekty stosowania antybiotyków i innych preparatów hamujących wzrost drobnoustrojów u chorych są słabe (antybiotykooporność) i prowadzą do licznych powikłań (np. alergii, grzybic układowych, intoksykacji). Bardzo dobre efekty stosowania dimerycznej postaci lizozymu obserwuje się już w lecznictwie weterynaryjnym. Forma dimeryczna lizozymu została już zastosowana w bakteryjnych i wirusowych chorobach zwierzęcych [21, 22, 24-28].

Dimer lizozymu aktywizuje proces fagocytozy leukocytów u zdrowych zwierząt po dodaniu *in vitro* do krwi i mleka cieląt [30] oraz *in vivo* u bydła [31-33], koni [34], świń [35, 36], królików [37], myszy [38] i cieląt [39]. Pobudza układ białokrwinkowy po domięśniowym podaniu zdrowym psom [36, 40] oraz po podaniu dożylnym źrebiętom rasy konik polny [34]. Pod wpływem dimeru lizozymu zwiększa się liczba leukocytów, odsetek neutrofili, przy równoczesnym zmniejszeniu limfocytów we krwi. Wykazano również, że dimer wpływa na stężenie hemoglobiny, liczbę erytrocytów i krwinek płytkowych, jak i na obraz wskaźników czerwonokrwinkowych u cieląt [29] i źrebiąt rasy konik polny [34], a nie zmienia wartości wskaźników krzepnięcia [34] oraz aktywności enzymów [34, 41]. Dimer lizozymu stymuluje odpowiedź humoralną u królików. Pod jego wpływem zwiększa się miano przeciwciał, wzrasta odporność organizmu bez wywoływania gorączki [37, 43]. W dostępnym piśmiennictwie nieliczne są dane na temat wpływu na reakcję ogólnoustrojową, wielokrotnego podawania dimeru lizozymu drogą parenteralną.

Celem pracy była ocena wpływu dimeru lizozymu na wartości parametrów hematologicznych, biochemicznych i układu krzepnięcia krwi oraz na morfologię narządów wewnętrznych u zdrowych królików, po dwukrotnej dożylnej iniekcji dimeru lizozymu w odstępach trzech tygodni. Przeprowadzone badania pozwolą na kompleksową ocenę oddziaływania dimeru lizozymu na żywy organizm.

MATERIAŁ

Do badań użyto czystej postaci dimeru lizozymu (KLP-602), zawartego w preparacie o nazwie handlowej Lydium-KLP (nr serii 830794), udostępnionego do badań przez firmę NIKE Health Products Spółka z o.o. - Poznań.

Preparat otrzymano w 10-milimetrowych, brązowych, szklanych fiolkach o następującym składzie:

- substancja czynna: 2 mg dimeru lizozymu o symbolu KLP-602,
- rozpuszczalnik: 10 ml fizjologicznego roztworu NaCl,
- środek konserwujący: triomersal,
- czystość powyżej 98%.

Zawarty w preparacie dimer lizozymu (KLP-602) o masie cząsteczkowej ok. 27 000 z jednym mostkiem Lys-Lys, jest białkiem otrzymanym w procesie polimeryzacji cząsteczki lizozymu (monomeru), wyizolowanego z białka jaja kurzego i poddanego obróbce technologicznej. Zastosowanie techniki HPLC (High Performance Liquid Chromatograph), pozwoliło na izolację z mieszaniny izomerów aktywnej dimerycznej postaci lizozymu [21, 22].

METODY BADAŃ

Przygotowanie zwierząt

Doświadczenie przeprowadzono na 39 królikach, nie wykazujących żadnych klinicznych objawów chorobowych, z jednorodnej hodowli rasy Nowozelandzkiej, obojga płci, w wieku 4 -5 miesięcy, o masie ciała 2,5 - 3,0 kg. Króliki sprowadzono do badań na 14 dni przed planowanym zabiegiem. Zwierzęta przebywały w warunkach chowu laboratoryjnego. Zwierzęta przetrzymywane były pojedynczo w standardowych klatkach w zwierzętarni. Zwierzęta miały nieograniczony dostęp do wody oraz żywione były podstawową paszą granulowaną LSK dla królików. W dniu poprzedzającym zabieg zwierzęta zostały poddane głodówce, z pozostawionym dostępem do wody.

Badania krwi

Przed iniekcją dimeru lizozymu od wszystkich zwierząt pobrano krew do oznaczeń wartości wyjściowych parametrów, czas 0. Dimer lizozymu (Lydium-KLP) podano

zwierzętom dożylnie w jednorazowej dawce 0,02 mg/kg masy ciała dwukrotnie (iniekcja I i II) w odstępie trzech tygodni. Pierwszej iniekcji poddano 34 zwierzęta. Krew do badań pobrano po 4, 6 i 24 godzinach oraz po 3, 7 i 21 dobach od I iniekcji dimeru lizozymu (tab. 1).

W 22 dobie doświadczenia (d-d) wykonano II iniekcję dimeru lizozymu u 21 królikach. Krew pobrano po 4 i 24 godzinach (22 doba doświadczenia) oraz po 3 dobach (24 d-d) i po 7 dobach (28 d-d) od iniekcji.

Krew do badań laboratoryjnych *in vitro* pobrano od zwierząt z żyły usznej na wersenian dipotasowy (EDTA-K2) oraz na 110 mmol/l roztwór cytrynianu sodu (1:10, V:V), jak i na skrzep. Badania krwi wykonano w Zakładzie Analityki Lekarskiej 4 WSK we Wrocławiu. Oznaczeń wybranych parametrów hematologicznych, układu krzepnięcia i biochemicznych dokonano na analizatorach, według instrukcji dostarczonych przez producentów.

W każdym terminie czasowym wykonano sekcję zwierząt, u których pobrano narządy: wątrobę, śledzionę, trzustkę, nerkę i płuca.

Badania hematologiczne

Morfologię krwi wersenianowej wykonano na analizatorze hematologicznym Baker 9000 firmy Dade Behring, Niemcy, z użyciem zestawów odczynników: Haema-Rinse-2, Haema Line-2, Haema-Auto Lyse, Haema Clean firmy Serono Baker Diagnostics (Coinsins Szwajcaria).

We krwi oznaczono:

- liczbę krwinek białych (WBC), liczbę krwinek czerwonych (RBC), liczbę krwinek płytkowych (PLT) – metodą elektroniczną, wartość WBC podano w G/l, RBC w T/l, PLT w G/;
- stężenie hemoglobiny (HGB) - zmodyfikowaną metodą cyjanomethemoglobinową, stężenie HGB podano w mmol/l;
- wyliczalne wskaźniki układu czerwonokrwinkowego, takie jak: hematokryt (HCT), średnią objętość krwinki czerwonej (MCV), średnią masę hemoglobiny w krwince czerwonej (MCH), średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej (MCHC), wskaźnik anizocytozy krwinek czerwonych (RDW) - wynik podano dla HCT w częściach jedności 1/1, MCV w fl, MCH w fmol, MCHC w mmol/l, RDW w %;

- skład krwinek białych: neutrofile (NE), limfocyty (LY), monocyty (MO), eozynofile (EO), bazofile (BA); wynik podano w liczbach względnych (%) i w częściach jedności 1/1 oraz w liczbach bezwzględnych G/l.

Badania układu krzepnięcia

Parametry układu krzepnięcia krwi oznaczono w osoczu, otrzymanym po odwirowaniu krwi cytrynianowej 1467 x g x 10min.(3000 obr./min, 10 min.).

Badania osoczowego układu krzepnięcia wykonano na aparacie Fibrintimer II (Dade Behring, Niemcy) w warunkach wystandaryzowanych: stała temperatura 37°C (310 K), pipety automatyczne, zestawy firmowych odczynników.

W osoczu oznaczono:

- czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) - ocena wewnątrzpochodnego układu krzepnięcia metodą fotooptyczno-mechaniczną, z użyciem substratu płytkowego (kefalina) i aktywatora (kaolin) oraz jonów wapnia; odczynnik Pathromtin SL; pomiaru czasu krzepnięcia wyrażono w sekundach; APTT (s);
- czas protrombinowy (PT) - ocena zewnątrzpochodnego układu krzepnięcia, metodą optyczno-mechaniczną oraz stężenie fibrynogenu (Fb) – metodą nefelometryczno-kinetyczną z użyciem tromboplastyny tkankowej oraz jonów wapnia; odczynnik Tromborel S; pomiar czasu krzepnięcia podano w sekundach; PT (s), stężenie Fb wyrażono w g/l.

Badania biochemiczne s

Krew pobraną do probówki zawierającej szklane kulki, po skrzepnięciu wirowano z prędkością (3500 obr./min, 10 min). Badania surowicy krwi wykonano na analizatorze RA-1000 firmy Technikon, stosując oryginalne zestawy odczynników firmy Technikon S.A. (Tournai - Belgia).

W surowicy oznaczono:

- stężenie białka całkowitego (TP) - metodą kolorymetryczną, biuretową; odczynnik: Total Protein Kit, pomiar fotometryczny absorbancji przy długości fali 550 nm; stężenie TP podano w g/l;
- stężenie albumin (Alb) - metodą kolometryczną z użyciem zieleni bromokrezolowej w środowisku kwaśnym; odczynnik: Total Albumin Reagents, pomiar fotometryczny absorbancji przy długości fali 600 nm; stężenie Alb podano w g/l;

- stężenie mocznika (Urea) - metodą enzymatyczno-kinetyczną z ureazą dehydrogenazą glutaminową z zastosowaniem testu optycznego Warburga z NADH przy długości fali 340 nm; odczynnik: Urea-Nitrogen Reagents; stężenie Urea podano w mmol/l; (SI) i mg/dl;
- stężenie kreatyniny (Crea) - metodą kolorymetryczną z kwasem pikrynowym w środowisku alkalicznym, z zastosowaniem pomiaru kinetycznego absorbancji przy długości fali 500 nm; odczynnik: Creatin Kit; stężenie Crea podano w $\mu\text{mol/l}$;
- aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST) (E.C.2.6.1.1.) - metodą kinetyczną z L-asparaginianem, buforem Tris i fosforanem pirydoksalu, z użyciem testu optycznego z NADH przy długości fali 340 nm w temperaturze 37°C (310 K), odczynnik: AspAT-Reagents; aktywność AST podano w $\mu\text{kat/l}$;
- aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT) (E.C.2.6.1.2.) - metodą kinetyczną z L-alaniną, buforem Tris i fosforanem pirydoksalu, z użyciem testu optycznego z NADH przy długości fali 340 nm, w temperaturze 37°C (310 K); odczynnik AlAT-Reagent; aktywność ALT podano w $\mu\text{kat/l}$;
- aktywność gamma glutamylotransferazę (GTP) (E.C.2.3.2.2) - metodą kinetyczno-kolorymetryczną z użyciem gamma-glutamyl-p-nitroanilidem i glicyloglicyną; odczynnik: GGTP-Reagent; pomiar fotometryczny absorbancji przy długości fali 405 nm w temperaturze 37°C (310 K); aktywność GGT podano w $\mu\text{kat/l}$;
- aktywność fosfatazy alkalicznej (ALP) (E.C.3.1.3.1) - metodą kinetyczno-kolorymetryczną z p-nitrofenylofosforanem i buforem 2-amino-2-metylo-1-propanolem (AMP); odczynnik: ALP-Kit; pomiar fotometryczny przy długości fali 405 nm w temperaturze 37°C (310 K); aktywność ALP podano w ncat/l ;
- aktywność alfa-amylazy (AMY) (E.C.3.2.1.1) - metodą kinetyczno-kolorymetryczną z użyciem p-nitrofenylo- α -D-maltoheptozydu; odczynnik: AMY-Reagents; pomiar fotometryczny absorbancji przy długości fali 405 nm (poprzez nitrofenol) w temperaturze 37°C (310 K); aktywność AMY podano w $\mu\text{kat/l}$;
- stężenie składowej dopełniacza C3 i C4, immunoglobuliny G i M i białka C-reaktywne (CRP) - metodą immunoturbidymetryczną opartą na fotometrycznym pomiarze swoistych nierozpuszczalnych kompleksów immunologicznych przy długości fali 340 nm; odczynniki: C3, C4- Reagents, IgG, IgM Reagents; stężenie C3 i C4 podano w g/l oraz stężenie IgM i IgG w g/l.

Analiza statystyczna

Wartości pomiarowe oznaczonych parametrów hematologicznych, układu krzepnięcia i biochemicznych krwi poddano analizie statystycznej. Dla każdego parametru obliczono: średnią wartość (X), odchylenie standardowe (SD), zakres referencyjny wartości, czyli wartość minimalna (Min) i maksymalna (Max). Sprawdzono typ rozkładu uzyskanych wyników testem χ^2 . Istotność statystyczną różnic (p) między średnimi wartościami oznaczonych parametrów krwi po I i II iniekcji dimeru lizozymu, a wartością wyjściową (czas 0, przed I iniekcją) oraz po II iniekcji z wartością w 21 dobie doświadczenia (czas 0, przed II iniekcją), obliczono nieparametrycznym testem sumy rany Wilcoxa z wykorzystaniem komputerowego programu statystycznego „Statgraphics” wersja 5.0. Przyjęto różnice za istotne statystycznie dla: * [#] $p \leq 0.05$, ** ^{##} $p \leq 0.01$, *** ^{###} $p \leq 0.001$ [42].

Badania narządów wewnętrznych

Zwracano uwagę na stan ogólny zwierząt oraz ich ruchliwość, łaknienie i przyrost wagi.

Badania histologiczne

Ocenę makroskopową i mikroskopową narządów wewnętrznych to jest: wątroby, śledziony, trzustki, nerki i płuc wykonano po I i II dożylniej iniekcji dimeru lizozymu (0,02 mg/kg masy ciała), w porównaniu z grupą zdrowych bez iniekcji królików.

Badania makroskopowe

Sekcje zwierząt wykonano po 4, 6 i 24 godzinach oraz po 3, 7 i 21 dniach od I iniekcji i po 4 i 24 godzinach oraz po 7 i 21 dniach od II iniekcji (tab. 1). W czasie sekcji w określonych dobach obserwacji, zwracano uwagę na rysunek brzegów narządów, ich konsystencję, zabarwienie i wielkość.

Badania mikroskopowe

Pobrane w czasie sekcji wycinki narządów wewnętrznych, jak: wątroby, nerek, płuc i śledziony, które utrwalono w 8% roztworze formaldehydu mrówkowego, odwadniano w szeregu acetonowym, prześwietlano je w karboksylenie i ksylenie, następnie zatapiano w bloczki parafinowe. Tak przygotowane wycinki skrawano na mikrotomie saneczkowym.

Skrawki grubości 3-5 μm po nałożeniu na szkiełko podstawowe i przykryciu szkiełkiem nakrywkowym barwiono hematoksyliną i eozyną.

WYNIKI BADAŃ

Badania hematologiczne

Średnie wartości poszczególnych parametrów hematologicznych w jednostkach SI podano na wykresach 1-12. Na diagramach zamieszczono odchylenie standardowe średnich wartości oraz poziom istotności statystycznej w badanych przedziałach czasowych. Ogółem wykonano 1378 oznaczeń.

Średnia liczba krwinek czerwonych (RBC) w wartościach wyjściowych (czas 0) wynosiła $5,89 \pm 0,70 \text{ G/l}$ (zakres: 4,29 - 7,50 T/l) (wykres 1, tab. 2).

Średnia liczba krwinek czerwonych (RBC) po 4 i 6 godzinach od I iniekcji dimeru lizozymu była w zakresie wartości wyjściowej. Po 24 godzinach i po 3 dobach stwierdzono istotne zmniejszenie liczby czerwonych krwinek (odpowiednio: $5,18 \pm 0,42 \text{ T/l}$ i $5,21 \pm 0,52 \text{ T/l}$, $p < 0,05$). Zmniejszenie RBC obserwowano również po 7 dobach ($4,87 \pm 0,41 \text{ T/l}$, $p < 0,01$) oraz po 21 dobach ($4,86 \pm 0,91 \text{ T/l}$, $p < 0,001$) od I iniekcji. Stwierdzone wartości RBC były zbliżone do siebie oraz istotnie różne od wartości wyjściowej.

Średnia liczba krwinek czerwonych po 4 godzinach od II iniekcji (22 d-d) wynosiła $5,03 \pm 0,44 \text{ T/l}$ i różniła się istotnie ($p < 0,05$) od średniej wartości wyjściowej. Zmniejszenie liczby krwinek czerwonych stwierdzono również po 24 godzinach (22 d-d: $4,64 \pm 1,04 \text{ T/l}$, $p < 0,01$) oraz po 3 dobach od II iniekcji (24 d-d: $4,58 \pm 0,43 \text{ G/l}$, $p < 0,001$), istotne w porównaniu do wartości wyjściowej. Po 7 dobach liczba czerwonych krwinek była na poziomie wartości wyjściowej (wykres 1, tab. 2 i 3).

Średnia wartość stężenia hemoglobiny (HGB) w wartościach wyjściowych wynosiła $8,10 \pm 0,84 \text{ mmol/l}$ (zakres: 6,69 - 10,17 mmol/l) (wykres 2, tab. 2).

Średnia wartość stężenia hemoglobiny po 4, 6 i 24 godzinach od I iniekcji dimeru lizozymu była w zakresie wartości od $7,47 \pm 0,71 \text{ mmol/l}$ do $8,55 \pm 0,49 \text{ mmol/l}$. Wartości te nie różniły się istotnie od średniej wartości wyjściowej. Zaobserwowano istotne zmniejszenie stężenia hemoglobiny po 3 dobach ($p = 0,01$) oraz po 7 dobach ($6,96 \pm 0,43 \text{ mmol/l}$, $p < 0,01$) w porównaniu do wartości wyjściowej. Po 21 dobach stężenie hemoglobiny wynosiło $7,53 \pm 0,75 \text{ mmol/l}$ i było istotnie zmniejszone ($p < 0,05$) w stosunku do wartości wyjściowej.

Stężenie hemoglobiny po 4 i 24 godzinach (22 d-d) oraz po 3 i 7 dobach od II iniekcji (24 i 28 d-d) dimeru lizozymu, było porównywalne z wartością wyjściową oraz z wartością w 21 dobie doświadczenia (wykres 2, tab. 2 i 3).

Średnia wartość wskaźnika hematokrytowego (HCT) w wartościach wyjściowych wynosiła $0,41 \pm 0,04$ l/l (zakres: 0,33 - 0,51 l/l) (wykres 3, tab. 2).

Średnia wartość hematokrytu po 24 godz., 3 dobach i 7 dobach od I iniekcji była w zakresie wartości od $0,35 \pm 0,02$ l/l do $0,36 \pm 0,04$ l/l. Stwierdzone wartości były istotnie zmniejszone (odpowiednio: $p < 0,05$, $p < 0,05$, $p < 0,01$) i różne od wartości wyjściowej.

Po II iniekcji dimeru lizozymu, wartości hematokrytu we wszystkich godzinach i dobach obserwacji były liczbowo zbliżone do wartości wyjściowej oraz wartości w 21 dobie doświadczenia (wykres 3, tab. 2 i 3).

Krwinki czerwone scharakteryzowano na podstawie wskaźników czerwonych krwinek takich jak: średnia objętość krwinki czerwonej - MCV, średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej - MCH, średnie stężenie hemoglobiny w krwinkach czerwonych - MCHC oraz rozkład objętości krwinek czerwonych (anizocytoza) - RDW.

Średnia objętość krwinki czerwonej (MCV) w wartościach wyjściowych wynosiła $68,10 \pm 3,38$ fl (zakres: 62,90 - 80,00 fl) (wykres 4, tab. 2).

Średnia objętość krwinki czerwonej po 4, 6 i 24 godzinach oraz po 3 dobach od I iniekcji dimeru lizozymu, była w zakresie wartości wyjściowej. Istotne zwiększenie średniej objętości krwinki czerwonej stwierdzono po 7 dobach ($p < 0,05$) oraz po 21 dobach ($77,66 \pm 10,05$ fl, $p < 0,001$) (wykres 4, tab. 2 i 3).

Zwiększenie wartości MCV ($72,65 \pm 6,36$ fl - $80,20 \pm 7,61$ fl) zaobserwowano po 4 godzinach ($p < 0,05$) i 24 godzinach ($p < 0,001$) oraz 3 dobach ($p < 0,01$) od II iniekcji (22, 24 d-d). Natomiast po 7 dobach średnia objętość krwinki czerwonej wynosiła $68,76 \pm 8,4$ fl i była na poziomie wartości wyjściowej.

Średnia objętość krwinki czerwonej po II iniekcji we wszystkich dobach obserwacji była w zakresie wartości w 21 dobie doświadczenia (wykres 4, tab. 2 i 3).

Średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej (MCH) w wartościach wyjściowych wynosiła $1,38 \pm 0,06$ fmol (zakres: 1,29 - 1,56 fmol) (wykres 5, tab. 2).

Średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej po 7 dobach od I iniekcji dimeru lizozymu istotnie zwiększyła się ($1,43 \pm 0,06$ fmol, $p < 0,05$) oraz po 21 dobach ($1,58 \pm 0,21$ fmol, $p < 0,001$), w porównaniu do wartości wyjściowej (wykres 5, tab. 2 i 3).

Po II iniekcji, 4 i 24 godziny (22 d-d), średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej była istotnie zwiększona (odpowiednio: $1,47 \pm 0,08$ fmol, $p < 0,01$; $1,59 \pm 0,15$ fmol, $p < 0,001$), w porównaniu do wartości wyjściowej i pozostała przy podwyższonej wartości również po 3 dobach ($1,62 \pm 0,12$, $p < 0,001$). Średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej po 7 dobach od II iniekcji (28 d-d), była liczbowo zbliżona do średniej wartości wyjściowej i wartości w 21 dobie doświadczenia (wykres 5, tab. 2 i 3).

Średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej (MCHC) w wartościach wyjściowych wynosiło $20,16 \pm 0,41$ mmol/l (zakres: 19,13 - 21,05 mmol/l) (wykres 6, tab. 2)

Średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej po 4, 6 i 24 godzinach od I iniekcji, nie różniło się istotnie od średniej wartości wyjściowej. Nieznaczne istotne zmniejszenie stwierdzono po 3 dobach ($19,73 \pm 0,27$ mmol/l, $p < 0,05$). Po 7 i 21 dobach wartość MCHC była zbliżona do wartości wyjściowej (wykres 6, tab. 2 i 3).

II iniekcja dimeru lizozymu nie spowodowała zmian w wartościach MCHC. Średnie wartości MCHC we wszystkich czasach obserwacji były porównywalne ze średnią wartością wyjściową, oraz z wartością w 21 dobie doświadczenia (wykres 6, tab. 2 i 3).

Średnia wartość wskaźnika anizocytozy krwinek czerwonych (RDW) w wartościach wyjściowych wynosiła $15,61 \pm 1,78$ % (zakres: 12,60 - 20,20 %) (wykres 7, tab. 2).

Średnia wartość wskaźnika RDW po 4 i 6 godzinach od I iniekcji była w zakresie wartości wyjściowej. Wskaźnik RDW istotnie zwiększył się po 24 godzinie ($p < 0,05$), osiągając po 3 dobach najwyższą wartość ($18,9 \pm 2,8$ %) istotnie różną od wartości wyjściowej ($p < 0,001$). Po 7 dobach i 21 dobach od podania preparatu średnia wartość wskaźnika anizocytozy krwinek czerwonych była zbliżona do wartości wyjściowej (wykres 7, tab. 2 i 3).

Średnia wartość wskaźnika RDW po 4, 24 godzinach oraz po 3 i 7 dobach od II iniekcji, była na poziomie wartości wyjściowej jak porównywalna z wartością w 21 dobie (wykres 7, tab. 2 i 3).

Średnia liczba białych krwinek (WBC) w wartościach wyjściowych wynosiła $13,56 \pm 2,92$ G/l (zakres: 7,80 – 20,30 G/l) (wykres 8, tab. 2).

Średnia liczba białych krwinek po 4, 6 i 24 godzinach oraz po 3 i 7 dobach od I iniekcji dimeru lizozymu była w zakresie wartości $12,15 \pm 3,41$ G/l - $13,84 \pm 2,76$ G/l, porównywalnych z wartością wyjściową WBC (czas 0). Po 21 dobach stwierdzono zmniejszenie liczby białych krwinek. Średnia wartość WBC wynosiła $11,06 \pm 3,53$ G/l i była istotnie różna od średniej wartości wyjściowej ($p < 0,05$) (wykres 8, tab. 2 i 3).

Średnia liczba białych krwinek 4 godziny (22 d-d) po II iniekcji dimeru lizozymu nieistotnie zwiększyła się ($15,48 \pm 2,20$ G/l, $p < 0,05$), w porównaniu do wartości wyjściowej. Po 24 godzinach i 3 dobach od iniekcji (22 i 24 d-d) stwierdzono nieistotne zmniejszenie liczby WBC. Istotne zmniejszenie liczby WBC obserwowano po 7 dobach. Średnia wartość WBC wynosiła $9,14 \pm 1,73$ G/l i była istotnie różna ($p < 0,001$) od średniej wartości wyjściowej (wykres 8, tab. 2 i 3).

Średnia liczba WBC 4 godziny (22 d-d) po II iniekcji istotnie zwiększyła się ($p < 0,05$), a po 24 godzinach, 3 i 7 dobach (odpowiednio: 22, 24 i 28 d-d) obserwowano nieistotne zmniejszenie w porównaniu do wartości średniej w 21 dobie (wykres 8, tab. 2 i 3).

W obrazie krwinek białych oceniono: neutrocyty, limfocyty, monocyty, eozynofile i bazofile.

Średnia wartość względna neutrocytów (NE) w wartościach wyjściowych wynosiła $0,46 \pm 0,12$ 1/l (zakres: 0,26 - 0,72 1/l) (wykres 9, tab. 2).

Średnia wartość względna neutrocytów po 4, 6 i 24 godzinach od I iniekcji dimeru lizozymu, była porównywalna do wartości wyjściowej. Po 3 dobach zaobserwowano zmniejszenie wartości względnej NE ($0,22 \pm 0,09$ 1/l), istotne ($p < 0,001$) w odniesieniu do wartości wyjściowej. Również po 21 dobach od I iniekcji stwierdzono zmniejszoną wartość neutrocytów ($p < 0,05$) (wykres 9, tab. 2 i 3).

Po II podaniu dimeru lizozymu, 4 godziny od iniekcji stwierdzono istotne zmniejszenie NE ($0,23 \pm 0,03$ 1/l, $p < 0,001$), w porównaniu do wartości wyjściowej. Średnia wartość NE po 24 godzinach oraz po 3 i 7 dobach od II iniekcji (22, 24 i 28 d-d), była w zakresie wartości $0,34 \pm 0,05$ - $0,44 \pm 0,09$ porównywalna ze średnią wartością wyjściową i wartością w 21 dobie doświadczenia (wykres 9, tab. 2 i 3).

Średnia wartość względna limfocytów (LE) w wartościach wyjściowych wynosiła $0,49 \pm 0,13$ 1/l (zakres: 0,19 - 0,73 1/l) (wykres 10, tab. 2).

Średnia wartość względna limfocytów po 4, 6 i 24 godzinach od I iniekcji dimeru lizozymu, była porównywalna ze średnią wartością wyjściową. Po 3 dobach stwierdzono istotne zwiększenie limfocytów ($0,75 \pm 0,09$ 1/l, $p < 0,001$). Średnia wartość limfocytów po 21 dobach od iniekcji była na podwyższonym poziomie ($0,58 \pm 0,13$ 1/l, $p < 0,05$), w porównaniu do średniej wartości wyjściowej (wykres 10, tab. 2 i 3).

Po II podaniu dimeru lizozymu, 4 godziny od iniekcji (22 d-d) zaobserwowano zwiększenie wartości względnej limfocytów. Stwierdzona wartość wynosiła $0,73 \pm 0,04$ 1/l i była istotnie zwiększona ($p < 0,001$) w stosunku do wartości wyjściowej. Podwyższoną

wartość limfocytów ($0,63 \pm 0,03$), istotnie różną ($p < 0,05$) od wartości wyjściowej, stwierdzono po 24 godzinach (24 d-d) od podania dimeru lizozymu. Po 3 i 7 dobach od II iniekcji (24 i 28 d-d), wartość względna limfocytów była na poziomie wartości wyjściowej i wartości w 21 dobie. W porównaniu do wartości w 21 dobie doświadczenia nie stwierdzono istotnych zmian w wartości względnej (wykres 10, tab. 2 i 3).

Średnie wartości względne liczby monocytów, eozynofili i bazofili w poszczególnych okresach obserwacji po I i II iniekcji dimeru lizozymu, były w zakresie wartości wyjściowej.

Średnia bezwzględna liczba neutrocytów (NE) w wartościach wyjściowych wynosiła $6,23 \pm 1,99$ G/l (zakres: 3,35 - 11,64 G/l).

Średnia bezwzględna liczba neutrocytów w porównaniu z wartością wyjściową istotnie nie zmieniała się po 4, 6 i 24 godzin od I iniekcji i była w zakresie wartości $5,28 \pm 0,82$ G/l - $7,09 \pm 2,49$ G/l. Po 3 dobach liczba neutrocytów istotnie zmniejszyła się ($3,09 \pm 1,52$ G/l, $p < 0,001$) w odniesieniu do wartości wyjściowej. Zmniejszoną liczbę bezwzględną neutrocytów ($4,02 \pm 1,56$, $p < 0,001$) stwierdzono również po 21 dobach od I iniekcji (wykres 11, tab. 2 i 3).

Po II iniekcji dimeru lizozymu, 4 godziny po podaniu preparatu (22 d-d) stwierdzono zmniejszenie neutrocytów ($3,67 \pm 0,9$ G/l, $p < 0,05$), w porównaniu do wartości wyjściowej. Średnia liczba bezwzględna NE po 3 dobach (24 d-d) wynosiła $4,07 \pm 1,82$ G/l i była istotnie zmniejszona ($p < 0,05$), w porównaniu z wartością wyjściową i pozostała przy tej zbliżonej, zmniejszonej wartości również po 7 dobach (24 d-d, $p < 0,01$) od II iniekcji. Średnia liczba neutrocytów we wszystkich dobach obserwacji po II iniekcji, była porównywalna z wartością neutrocytów w 21 dobie doświadczenia (wykres 11, tab. 2 i 3).

Średnia bezwzględna liczba limfocytów (LY) w grupie kontrolnej wynosiła $6,84 \pm 2,43$ G/l (zakres: 1,56 - 12,99).

Średnia bezwzględna liczba limfocytów po 4, 6 i 24 godzinach po I iniekcji dimeru lizozymu była porównywalna do wartości wyjściowej LY. Po 3 dobach obserwowano zwiększenie bezwzględnej liczby LY, która wynosiła $9,92 \pm 2,69$ G/l i była istotnie różna od wartości wyjściowej ($p < 0,01$).

Po II iniekcji dimeru lizozymu liczba limfocytów, 4 godziny od podania (22 d-d) istotnie wzrosła ($11,32 \pm 1,18$ G/l, $p < 0,001$). Średnia liczba limfocytów po 24 godzinach od iniekcji (22 d-d) była na podwyższonym poziomie, ale nie istotnym od wartości wyjściowej. Po 3 dobach od iniekcji (24 d-d) średnia liczba LY była porównywalna z wartością wyjściową. Istotne zmniejszenie liczby LY stwierdzono po 7 dobach ($4,64 \pm 0,99$ G/l,

$p < 0,01$) od II iniekcji. W porównaniu do wartości w 21 dobie obserwowano zwiększenie liczby LY po 4 godzinach (22 d-d). W dalszych dobach bezwzględna liczba LY była na poziomie wartości w 21 dobie doświadczenia (wykres 12, tab. 2 i 3).

Średnia liczba bezwzględna monocytów, eozynofilów i bazofilów po I i II iniekcji dimeru lizozymu w poszczególnych okresach obserwacji, nie różniła się istotnie od średniej wartości wyjściowej.

Średnie wartości oznaczonych parametrów hematologicznych wraz z odchyleniem standardowym zestawiono w tabeli 2. Analizę porównawczą średnich wartości podano w tabeli 3.

Badania układu krzepnięcia

Średnie wartości poszczególnych parametrów krzepnięcia krwi w jednostkach SI podano na wykresach 13-16. Na diagramach zamieszczono odchylenie standardowe średnich wartości oraz poziom istotności statystycznej. Wykonano łącznie 558 oznaczeń.

Średnia wartość stężenia fibrynogenu (Fb) w wartościach wyjściowych (czas 0) wynosiła $2,04 \pm 0,53$ g/l (zakres: 1,12 - 3,14 g/l) (wykres 13, tab. 4).

Średnia wartość stężenia fibrynogenu po 4 i 6 godzinach od I iniekcji dimeru lizozymu była w zakresie wartości wyjściowej. Po 24 godzinach i 3 dobach zaobserwowano zmniejszenie stężenia fibrynogenu. Średnie wartości fibrynogenu były istotnie zmniejszone (odpowiednio: $1,45 \pm 0,24$ g/l i $1,52 \pm 0,32$, $p < 0,05$) w stosunku do wartości wyjściowej. Po 7 dobach średnie stężenie fibrynogenu wynosiło $2,59 \pm 0,64$ g/l i było istotnie zwiększone ($p < 0,05$), w porównaniu do średniej wartości wyjściowej (ryc. 13, tab. 4 i 5).

Po II iniekcji, 4 godziny od podania dimeru lizozymu stężenie fibrynogenu istotnie wzrosło ($2,47 \pm 0,79$ g/l, $p < 0,05$), a po i 24 godzinach (22d-d) było porównywalne z wartością wyjściową. Istotne zmniejszenie fibrynogenu stwierdzono po 3 dobach ($1,43 \pm 0,25$ g/l, $p < 0,05$). Po 7 dobach wartość fibrynogenu wynosiła $1,71 \pm 0,20$ g/l i była porównywalna do wartości wyjściowej oraz wartości w 21 dobie od I iniekcji (wykres 13, tab. 4 i 5).

Średnia wartość czasu kaolinowo-kefalinowego (APTT) w wartościach wyjściowych wynosiła $27,42 \pm 6,42$ s (zakres: 18,50 - 46,00 s) (wykres 14, tab. 4).

Średnie wartości APTT w poszczególnych okresach obserwacji po I iniekcji były w zakresie od $23,17 \pm 3,33$ s do $26,87 \pm 4,10$ s. Wartości były zbliżone do siebie i nie różniły się istotnie od średniej wartości wyjściowej (wykres 14, tab. 4 i 5).

Po II iniekcji, 4 godziny od podania dimeru lizozymu stwierdzono skrócenie APTT ($18,9 \pm 3,59$ s), istotne ($p < 0,05$) w porównaniu do wartości wyjściowej jak i do wartości w 21 dobie ($p < 0,01$). Nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy średnimi czasami APTT po 1, 3 i 7 dobie od II iniekcji (22, 24 i 28 d-d), a wartością wyjściową, jak również w porównaniu do wartości w 21 dobie (wykres 14, tab. 4 i 5).

Średnia wartość czasu protrombinowego (PT) w wartościach wyjściowych wynosiła $7,53 \pm 1,89$ s (zakres: 6,30 - 15,10 s) (wykres 15, tab. 4).

Średnia wartość PT po 4, 6 i 24 godzinach oraz 3 i 7 dobach jak i po 21 dobach od I iniekcji, nie różniła się istotnie od średniej wartości wyjściowej (wykres 15, tab. 4 i 5).

Średnie wartości czasu protrombinowego po II iniekcji dimeru lizozymu w badanych terminach czasowych, były porównywalne i wynosiły od $6,26 \pm 0,14$ s do $6,65 \pm 0,21$ s. Stwierdzone wartości nie różniły się istotnie od wartości wyjściowej oraz wartości w 21 dobie (wykres 15, tab. 4 i 5).

Średnia liczba krwinek płytkowych (PLT) w wartościach wyjściowych wynosiła $450,94 \pm 103,52$ G/l (zakres: 208,00 - 671,00 G/l) (wykres 16, tab. 4).

Średnia liczba krwinek płytkowych po 4, 6 i 24 godzinach oraz 3 dobach po I iniekcji była w zakresie wartości $386,67 \pm 91,02$ G/l - $499,33 \pm 90,71$ G/l, wartości zbliżonych do wartości wyjściowej. Istotnie różne od wartości wyjściowej ($p < 0,01$). Po 21 dobach PLT była porównywalna ze średnią wartością wyjściową (wykres 16, tab. 4 i 5).

Po II iniekcji dimeru lizozymu, 4, 24 godzinach oraz 3 dobach (22, 24 i 28 d-d), nie zaobserwowano istotnych różnic w PLT w stosunku do wartości wyjściowej. Średnia wartość PLT po 7 dobach wynosiła $337,00 \pm 104,00$ G/l i była istotnie niższa ($p < 0,01$) od wartości wyjściowej oraz wartości w 21 dobie doświadczenia (wykres 16, tab. 4 i 5).

Badania biochemiczne

Średnie wartości poszczególnych parametrów biochemicznych w jednostkach SI podano na wykresach 17-26. Na diagramach zamieszczono odchylenie standardowe średnich wartości oraz poziom istotności statystycznej. Analizę porównawczą średnich wartości podano w tabelach 5 i 6. Ogółem wykonano 1372 oznaczeń.

Średnia wartość stężenia białka całkowitego (TP) w wartościach wyjściowych (czas 0) wynosiła $62,90 \pm 9,00$ g/l (zakres: 37,20 - 81,20 g/l) (wykres 17, tab. 6).

Średnia wartość stężenia białka całkowitego po 6 godzinach od I iniekcji dimeru lizozymu istotnie zwiększyła się ($75,60 \pm 9,90$ g/l, $p < 0,01$), a po upływie 1 i 3 doby była w zakresie wartości wyjściowej. Po 7 dobach od iniekcji stwierdzono istotne zmniejszenie ($47,40 \pm 7,00$ g/l, $p < 0,001$) stężenia białka całkowitego. Po 21 dobach wartość TP wynosiła $61,2 \pm 1,32$ g/dl i była porównywalna z wartością wyjściową (wykres 17, tab.6 i 7).

Średnia wartość stężenia białka całkowitego po 4, 24 godzinach oraz 3 dobach od II iniekcji (22 i 24 d-d) była w zakresie $61,20 \pm 5,20$ g/l - $68,30 \pm 5,40$ g/l, wartości zbliżonych do średniej wartości wyjściowej. Istotne zmniejszenie stężenia TP zaobserwowano po 7 dobach (28 d-d: $52,0 \pm 10,1$ g/l, $p < 0,001$) w porównaniu do wartości wyjściowej. Średnie stężenia białka całkowitego po II iniekcji było porównywalne z wartością białka w 21 dobie (wykres 17, tab. 6 i 7).

Średnie stężenia albumin (Alb) w wartościach wyjściowych wynosiło $50,50 \pm 8,20$ g/l (zakres: 29,00-63,00 g/l) (wykres 18, tab. 6).

Średnie wartości stężenia albumin po 4, 6 i 24 godzinach oraz 3 dobach od I iniekcji dimeru lizozymu, były do siebie zbliżone i mieściły się w zakresie od $51,70 \pm 4,50$ g/l do $56,50 \pm 4,80$ g/l. Po 7 dobach stężenie albumin wynosiło $37,30 \pm 4,70$ g/l i było istotnie zmniejszone ($p < 0,01$), w porównaniu do wartości wyjściowej (wykres 18, tab. 6, 7).

Średnia wartość stężenia albumin 4 i 24 godzin i 3 doby od II iniekcji (22 i 24,d-d) była w zakresie wartości wyjściowej. Po 7 dobach (28 d-d) stwierdzono istotne zmniejszenie ($43,00 \pm 9,10$ g/l, $p < 0,05$) stężenia albumin, w stosunku do wartości wyjściowej. Po II iniekcji stwierdzone wartości stężenia albuminy nie różniły się istotnie od wartości w 21 dobie doświadczenia (wykres 18, tab. 6 i 7).

Średnia wartość aktywności fosfatazy alkalicznej (ALP) w wartościach wyjściowych wynosiła $618,90 \pm 221,44$ nkat/l (zakres: 283,90 - 1068,80 nkat/l) (wykres 19, tab.6).

Średnia aktywności fosfatazy alkalicznej po 6 godzin od I iniekcji była istotnie zmniejszona ($311,78 \pm 104,37$ nkat/l, $p < 0,01$), następnie stwierdzono nieistotne zwiększenie po 1, 3 i 7 dobie od iniekcji. Po 21 dobach średnia wartość aktywności fosfatazy alkalicznej była porównywalna z wartością wyjściową. (wykres 19, tab.6 i 7).

Po 24 godzinach od II iniekcji (22 d-d) stwierdzono istotnie zwiększoną ($p < 0,01$) aktywność fosfatazy alkalicznej ($931,02 \pm 300$ nkat/l), w porównaniu do wartości wyjściowej. Po 3 i 7 dobach (24, 28 d-d) nie stwierdzono istotnych zmian w aktywności ALP, w porównaniu do wartości wyjściowej oraz do 21 doby (wykres 19, tab. 6 i 7).

Średnia aktywności aminotransferazy asparaginowej (AST) w wartościach wyjściowych wynosiła $0,516 \pm 0,89 \mu\text{kat/l}$, a zakres: 0,102-1,880 $\mu\text{kat/l}$ (wykres 19, tab. 5), aminotransferazy alaninowej (ALT) $1,28 \pm 0,89 \mu\text{kat/l}$, a zakres 0,42 - 4,50 $\mu\text{kat/l}$ (wykres 19, tab. 5) oraz gamma-glutaminyotransferazy (GTP) $0,18 \pm 0,092 \mu\text{kat/l}$, a zakres: 0,100-0,450 $\mu\text{kat/l}$ (wykres 19, tab. 6).

Średnie wartości aminotransferazy AST, ALT i GTP w poszczególnych okresach obserwacji po I i II iniekcji, były porównywalne do średniej wartości wyjściowej oraz wartości w 21 dobie (wykresy 20, 21 i 22, tab. 6 i 7).

Średnie stężenie składowej dopełniacza C3 w wartościach wyjściowych wynosiło $0,32 \pm 0,07 \text{ g/l}$ (zakres: 0,16 - 0,47 g/l) (wykres 23, tab. 6). Średnie stężenia składowej dopełniacza C3 po I iniekcji we wszystkich czasach obserwacji były porównywalne do średniej wartości wyjściowej (wykres 23, tab. 6 i 7).

Po 4, 24 godzinach (22d-d) oraz 3 dobach od II iniekcji (24 d-d) średnie wartości stężenia były zbliżone i wynosiły od $0,31 \pm 0,06 \text{ g/l}$ do $0,37 \pm 0,08 \text{ g/l}$. Po 7 dobach (24 d-d) zaobserwowano zmniejszenie stężenia składowej C3. Stwierdzona wartość wynosiła $0,24 \pm 0,07 \text{ g/l}$ i była istotnie różna ($p < 0,01$) od średniej wartości wyjściowej (wykres 23, tab. 6 i 7).

Po II iniekcji wartość stężenia składowej dopełniacza C3 we wszystkich czasach obserwacji była porównywalna do wartości w 21 dobie (wykresy 23, tab. 6 i 7).

Średnie stężenie składowej dopełniacza C4 w wartościach wyjściowych wynosiło $0,062 \pm 0,024 \text{ g/l}$ (zakres: 0,029 - 0,127 g/l) (wykres 24, tab.6). Średnia wartość stężenia składowej dopełniacza C4 po 6 godzinach od I iniekcji była zwiększona ($0,091 \pm 0,016 \text{ g/l}$), istotnie przekraczając ($p < 0,01$) średnią wartość wyjściową. Po 24 godzinach oraz 3, 7 i 21 dobach wartość stężenia składowej C4 była zbliżona do wartości wyjściowej (wykres 24, tab. 6 i 7).

Po II iniekcji nie zaobserwowano istotnych zmian w stężeniu składowej C4 w poszczególnych okresach badania, w porównaniu do wartości wyjściowej oraz wartości w 21 dobie doświadczenia (wykres 24, tab. 6 i 7).

Średnie stężenie immunoglobulin G (IgG) w wartościach wyjściowych wynosiło $5,08 \pm 1,58 \text{ g/l}$ (zakres: 2,14 - 9,21 g/l) (wykres 25, tab. 6).

Średnia wartość stężenia IgG po 6 godzinach od I iniekcji była istotnie zwiększona ($7,19 \pm 1,11 \text{ g/l}$, $p < 0,01$). Po 7 dobach stężenie IgG było istotnie zmniejszone w stosunku do wartości wyjściowej i wynosiło $3,51 \pm 1,11 \text{ g/l}$ ($p < 0,05$). Po 21 dobie wartość stężenia IgG była porównywalna z wartością wyjściową (wykres 25, tab. 6 i 7).

Po II iniekcji stężenie IgG w określonych czasach obserwacji było na poziomie wartości wyjściowej oraz wartości stwierdzonej w 21dobie (wykres 25, tab. 6 i 7).

Średnie stężenia immunoglobulin M (IgM) w wartościach wyjściowych wynosiła $0,85 \pm 0,46$ g/l (zakres: 0,21-2,17 g/l) (wykres 26, tab. 6).

Średnia wartość stężenia IgM po 6 godzin od I iniekcji była istotnie zmniejszona ($0,33 \pm 0,11$ g/l, $p < 0,01$), natomiast po 24 godzinach istotnie zwiększona ($1,33 \pm 0,10$ g/l; $p < 0,05$), w porównaniu do wartości wyjściowej. Po 3 dobach od iniekcji średnia wartość stężenia IgM była na podwyższonym poziomie ($1,38 \pm 0,35$ g/l, $p < 0,05$). Średnia wartość stężenia IgM po 21 dobach od iniekcji wyniosła $0,47 \pm 0,19$ g/l i była istotnie zmniejszona ($p < 0,01$), porównaniu do średniej wartości wyjściowej (wykres 26, tab. 6 i 7).

Po II iniekcji, 24 godziny (22 d-d) od iniekcji dimeru lizozymu stwierdzono istotne zmniejszenie stężenia IgM ($0,26 \pm 0,07$, $p < 0,05$). Średnie wartości stężeń IgM po 3 dobie (24 doba d-d) od II iniekcji, były porównywalne z wartością wyjściową stwierdzoną w 21 dobie. Po 7 dobach istotne zwiększenie ($0,67 \pm 0,18$, $p < 0,05$) w porównaniu do wartości w 21 dobie (wykres 26, tab. 6 i 7). Po I i II iniekcji dimeru lizozymu nie stwierdzono obecności w surowicy białka C-reaktywnego

Badania narządów wewnętrznych

Wszystkie zwierzęta przeżyły cały okres obserwacji. Zachowanie ich nie odbiegało od normy. Stwierdzono prawidłowe łaknienie i przyrost masy ciała oraz prawidłową ruchliwość.

Badania histologiczne

W czasie wszystkich przeprowadzonych planowych sekcji królików, zarówno po pierwszej jak i po drugiej iniekcji dimeru lizozymu, nie obserwowano makroskopowo zmian w wyglądzie narządów wewnętrznych w porównaniu z grupą kontrolną.

Narządy w ocenie makroskopowej miały następujące cechy:

wątroba - brzegi płaskie, wielkość prawidłowa, zabarwienie typowe;

śledziona - wielkość prawidłowa o brzegach płaskich i typowym kolorze;

trzustka - wysepki różowo-białe bez makroskopowych zmian;

nerki - kształt, kolor i wielkość prawidłowa;

płuca - różowe o płaskich brzegach.

Po wykonaniu przekrojów w osi pionowej przez w/w narządy, nie stwierdzono zmian o charakterze patologicznym.

W preparatach histologicznych, wykonanych z pobranych wycinków narządów wewnętrznych barwionych hematoksyliną i eozyną oraz metodą van Giesona, obserwowano następujący obraz mikroskopowy:

wątroba - prawidłowa budowa zrazika, nie stwierdzono przerostu tkanki łącznej międzyzrazikowej, przestrzenie wrotno-żółciowe prawidłowe;

śledziona - zarówno belecзки śledzionowe, jak i miazga czerwona i biała o budowie mikroskopowej prawidłowej;

trzustka - prawidłowa budowa zrazikowa ze skupiskami wysp Langerhansa;

nerki - miąższ nerki, istota korowa jak i rdzena o prawidłowej budowie;

płuca - mikroskopowo nie zmienione.

DYSKUSJA

Wpływ dimeru lizozymu (Lydium-KLP) na wybrane parametry krwi oraz ocenę morfologiczną narządów wewnętrznych (wątroba, płuca, nerki), badano u zdrowych klinicznie królików po dwukrotnej dożylniej iniekcji w dawce jednorazowej 0,02 mg/kg m.c. w odstępach trzech tygodni. Przed rozpoczęciem doświadczenia dla każdego oznaczonego parametru hematologicznego, układu krzepnięcia oraz biochemicznego wyznaczono wartości wyjściowe - średnią wartość oraz zakres referencyjny wartości. Przeprowadzona w czasie doświadczenia obserwacja zwierząt, nie wykazała jakichkolwiek zmian w ich zachowaniu. Zarówno przed iniekcją, jak i po dwukrotnym dożylnym podaniu dimeru lizozymu, nie stwierdzono odchyłań od ogólnie przyjętych wskaźników zdrowia klinicznego dla królików w tym wieku. W oparciu o szczegółowe i dokładne badania śródoperacyjne, nie stwierdzono zmian patologicznych narządów klatki piersiowej, ani jamy brzusznej.

Po I iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP), od 1 doby do 7 jak i po 21 dobach obserwowano zmniejszenie liczby krwinek czerwonych (RBC), stężenia hemoglobiny (HGB) i wartości hematokrytu (HCT). Natomiast od 7 doby obserwowano zwiększenie średniej objętości krwinki czerwonej (MCV) i średniej masy hemoglobiny w krwince (MCH).

Po II iniekcji, od 22 doby doświadczenia do zakończenia doświadczenia, wartości RBC, HGB i HCT były porównywalne do wartości w 21 dobie, ale pozostawały zmniejszone w stosunku do wartości wyjściowych. Średnia objętość krwinki czerwonej i średnia masa hemoglobiny w krwince, pozostawały na podwyższonym poziomie. Zarówno po I jak i II iniekcji nie miały istotnego wpływu na średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej

(MCHC), jak również na wskaźnik anizocytozy (RDV). W ostatnim dniu doświadczenia, 7 dni po II iniekcji, nastąpiło wyrównanie wszystkich badanych parametrów czerwonych krwinek do wartości wyjściowych.

Zaobserwowane zmiany w wartościach RBC, HCT, HGB, MCV, MCH po obu iniekcjach dimeru lizozymu, sugerują wystąpienie niedokrwistości o łagodnym przebiegu. Zbliżone wyniki uzyskali w swoich badaniach Kiczka, Dudko i wsp. Obserwując dynamikę zmian wyżej wymienionych parametrów u zdrowych cieląt, stwierdzili w pierwszych dobach po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP) zmniejszenie ich wartości [29]. Jednak obserwowali oni szybszy powrót RBC, HGB, HCT, MCV, MCH do wartości wyjściowej, aniżeli miało to miejsce w niniejszym doświadczeniu. Natomiast powyżej opisanych zmian w zakresie układu czerwonych krwinek po podaniu dimeru lizozymu nie obserwowano u źrebiąt [34].

I iniekcja dimeru lizozymu wywołała nieznaczne zmniejszenie ogólnej liczby krwinek białych we krwi obwodowej badanych zwierząt. Jednak od 4 godziny obserwowano zmianę obrazu krwi. Początkowo stwierdzono nieznaczne zwiększenie odsetka neutrofili, a zmniejszenie odsetka limfocytów. Po 3 dobie od podania relacje te odwróciły się, znacząco zmniejszył się odsetek neutrofili, a zwiększył się odsetek limfocytów. Po 7 dobach obserwowano wyrównanie tych zmian do zakresu wartości wyjściowych. 4 godziny po II podaniu dimeru lizozymu stwierdzono podobną tendencję zmian w obrazie krwi – zmniejszenie odsetka neutrofili, a zwiększenie odsetka limfocytów – jaka wystąpiła po 3 dobach od I iniekcji. Zmieniła się również ogólna liczba krwinek białych – zaobserwowano ich wzrost. Zmiany w wartościach parametrów układu białokrwinkowego zostały wyrównane do wartości wyjściowych w ostatnim dniu doświadczenia.

Wykazane zmiany liczby krwinek białych i obrazu białokrwinkowego krwi obwodowej zarówno po I iniekcji jak i po II iniekcji dimeru lizozymu, wskazują na pobudzenie układu odpornościowego u badanych zwierząt. Jednak skrócony czas wystąpienia zmian po II iniekcji sugeruje, że pobudzenie mechanizmów odpowiadających na podany lizozym, następuje znacznie szybciej i jest skrócone w czasie. Podobne tendencje zmian po podaniu dimeru lizozymu – wzrost limfocytów, a obniżenie odsetka neutrofili obserwowali Kiczka i Pomorski u psów [41]. U źrebiąt z kolei zmiany w zakresie układu białokrwinkowego miały charakter przeciwny – obniżył się odsetek limfocytów [34]. Opisane zmiany w doświadczeniu jak i przez innych autorów, wskazują na pobudzenie u badanych zwierząt mechanizmów odporności zarówno nieswoistej jak i swoistej

Po iniekcjach dimeru lizozymu obserwowano zmniejszenie stężenia fibrynogenu (I iniekcja: 1 i 3 d-d, II iniekcja: 3 d-d), które mogło być związane z syntezą tego białka, bądź zużyciem jego w procesie wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, jak również może świadczyć o wystąpieniu niedokrwistości aplastycznej, wyrazem czego było zmniejszenie HGH, HCT, RBC oraz zwiększenie MCV, MCH. Zwiększenie wartości Fb (I iniekcja 7 d-d, II iniekcja 4 h) może być następstwem zarówno przyspieszonej produkcji, jak i zwolnionej degradacji. Zwiększoną produkcję obserwuje się jako skutek reakcji ostrej fazy, uszkodzenia śródbłonna lub częściej jako efekt aktywacji układu krzepnięcia. Wykazane zmiany w wartościach fibrynogenu wykluczają jego działanie jako białka ostrej fazy, a potwierdzeniem było oznaczenie białka C-reaktywnego, którego wartości były w zakresie normy. Natomiast ze wzrostem stężenia fibrynogenu stwierdzono skrócenie czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT), przy nie zmienionych wartościach czasu protrombinowego (PT). Świadczy to o wystąpieniu przejściowej aktywacji krzepnięcia w układzie wewnątrzpochodnym, bez istotnych zmian w układzie zewnątrzpochodnym. Należy nadmienić, że Kiczka i Wiśniewski nie wykazali istotnych zmian w wartościach wskaźników krzepliwości, po iniekcji dimeru lizozymu u źrebiąt [34].

W przeprowadzonych badaniach własnych, nie stwierdzono istotnego wpływu dimeru lizozymu (Lydium-KLP) na aktywność enzymów nekrotycznych wątroby (AST, ALT). Również w swoich badaniach Kiczka, Wiśniewski i wsp. [34], jak i Borzemska i wsp. [41] oraz Bielas i wsp. [43], nie wykazali różnic w kształtowaniu się aktywności AST i ALT. Natomiast w doświadczeniu stwierdzono zwiększenie aktywności fosfatazy alkalicznej, podobne zmiany wykazała Borzemska i wsp. [41].

Po I iniekcji dimeru lizozymu, 6 godzin podaniu obserwowano zwiększenie stężenia białka całkowitego, na którego wartość wpływ mogło mieć zwiększenie stężenia IgG oraz składowej dopełniacza C4, przy nie zmienionym poziomie albumin i składowej C3. Zwiększenie stężenia IgM nastąpiło później (24 h) i utrzymywało się na podwyższonym poziomie do 7 doby przy nie zmienionym, wyrównanym stężeniu IgG. Można stwierdzić, że tendencja zmian w zakresie wartości białka całkowitego i albumin oraz stężenia IgG, IgM jak i składowych dopełniacza C3 i C4, widoczne było po 7 dobach zarówno po I jak i po II iniekcji dimeru lizozymu. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że dimer lizozymu wpływa modyfikująco na stężenie białek IgG, IgM, oraz składowych C3, C4, biorących udział w procesach odporności nieswoistej humoralnej.

Potwierdzeniem uzyskanych wyników są obserwacje Krakowskiego i wsp. prowadzone u ciężarnych loch [44]. Autorzy stwierdzili, że dimer lizozymu (Lydium-KLP)

stosowany u ciężarnych loch, wywołał zwiększenie stężenia IgG i IgM oraz stężenie białka całkowitego, co ich zdaniem nasiliło właściwości odpornościowe siary u ciężarnych loch. Również Dębiński i wsp. wykazali efektywne działanie profilaktyczne dimeru lizozymu odnośnie zespołu CM (coliform mastitis) u ciężarnych loch [35, 36].

U tych zwierząt obserwowano wzrost aktywności fagocytarnej leukocytów, odsetka limfocytów, stężenia białka całkowitego, albumin i globulin (IgG). Spowodowało to zwiększenie odporności organizmu, a tym samym wzmocnienie statutu immunologicznego w okresie okołoporodowym loch, co miało korzystny wpływ na przebieg okresu poporodowego. Ponadto Mukezamfury i wsp. w badaniach nad wpływem dimeru lizozymu (Lydium-KLP) na parametry odpowiedzi humoralnej u królików wykazali, że wyraźnie podwyższa on miano przeciwciał po podaniu dimeru lizozymu, których poziom był dwukrotnie wyższy, niż w grupie kontrolnej [37]. Samorek-Salamonowicz i wsp. w badaniach zaobserwowali, że podanie dimeru lizozymu równocześnie ze szczepieniem gęsi niosek przeciwko chorobie Derzsyego, również zwiększa produkcję przeciwciał i powoduje lepszą transmisję przeciwciał matczynych [45, 46]. Wójcik i wsp. w zakresie oznaczonych parametrów biochemicznych (białko całkowite, IgM) oraz parametrów odporności nieswoistej u indyków uodpornionych wirusem NDV, po podaniu dimeru lizozymu stwierdzili wyższe ich wartości niż w grupie, która nie otrzymywała dimeru lizozymu [48, 49]. Wykazali oni również, że dimer lizozymu (Lydium-KLP) stymuluje przede wszystkim odporność humoralną, w mniejszym zaś stopniu odporność komórkową. Mechanizm jego działania opiera się na pobudzeniu poliklonalnej proliferacji, właściwościach splenocytów, migracji leukocytów krwi obwodowej oraz syntezie IL 1, 2, 4, 5 [47–49].

W prezentowanych badaniach własnych, wykazano immunostymulacyjny wpływ dimeru lizozymu na humoralną i komórkową odpowiedź immunologiczną. Wyrazem tego było zwiększenie liczby limfocytów przy zmniejszonej liczbie neutrofilii oraz nie zmienionej (po I iniekcji), jak i zwiększonej (po II iniekcji) liczbie białych krwinek. Stwierdzono również zwiększenie stężenia IgG i IgM jak i aktywację układu dopełniacza, czego wyrazem było zwiększenie stężenia składowej C4 oraz stężenia fibrynogenu. Wykazane zmiany świadczą o pobudzeniu odporności organizmu, gdzie w większym stopniu uaktywniona jest odporność swoista, przy nieznacznie osłabionej stymulacji odporności nieswoistej komórkowej.

Powtórne podanie dimeru lizozymu wywołało wtórną odpowiedź immunologiczną, która wystąpiła szybciej i trwała krócej. Skrócenie w czasie po II iniekcji reakcji organizmu na wprowadzony dimer lizozymu, wyrażający się zwiększeniem wartości badanych

parametrów krwi sugeruje, że po I iniekcji obok komórek efektorowych (limfocyty produkujące Ig) pojawiły się komórki pamięci, limfocyty reagujące na ponowne podanie lizozymu.

Wykazane w pracy statystyczne zmiany w wartościach parametrów krwi, nie wykraczały poza przyjęte zakresy referencyjne wartości wyjściowych, dlatego można wnioskować, że działanie biostymulacyjne dimeru lizozymu (Lydium-KLP) jest umiarkowane. Tendencja zmian wartości parametrów nawet w zakresie wartości referencyjnym, może być wskaźnikiem dla oceny działania dimeru lizozymu w organizmie.

Z przeprowadzonych badań wynika, że dimer lizozymu (Lydium-KLP) wykazuje działanie ogólnoustrojowe, czego efektem są zmiany w wartościach parametrów hematologicznych, krzepnięcia i biochemicznych.

Zmiany w wartościach parametrów różnią się między iniekcjami. Po II iniekcji stwierdzono szybszą reakcję organizmu w zakresie badanych parametrów, a czas trwania tych zmian był krótszy niż po I iniekcji. Analizowane zmiany parametrów krwi u zdrowych królików, wskazują na stymulacyjny wpływ dimeru lizozymu na procesy immunologiczne. Obserwowane zmiany mogą być spowodowane oddziaływaniem dimeru lizozymu na mechanizmy biochemiczne ustroju, jak również mogą być wynikiem odpowiedzi immunologicznej na obcy antygen.

Z dotychczasowych badań wykonanych na wyższych jak i niższych kręgowcach wynika, że dimer lizozymu (KLP-602) jest skutecznym modulatorem reakcji immunologicznych [22, 25, 50-53]. Immunostymulujące właściwości dimeru lizozymu (KLP-602) zaobserwowali Siwicki i wsp. [54]. Z badań tych autorów prowadzonych na proszętkach wynika, że dimer lizozymu stymuluje aktywność metaboliczną i fagocytarną komórek żernych oraz aktywuje proliferację limfocytów T i B. Obserwowali oni również istotny wzrost wydzielania IL-1, IL-2 oraz IFN- γ . Obmińska-Mrukowicz i Światała w badaniach na myszach immunizowanych antygenem grasiczozależnym (SRBC), wykazali potencjalizujące działanie dimeru lizozymu (Lydium-KLP) na pierwotną i wtórną odpowiedź humoralną [22, 55-58]. Większość autorów sugeruje, że działanie dimeru lizozymu potencjalizujące odpowiedź humoralną, związane jest ze stymulacją bądź modulacją przez niego komórek jednojądrzastych do syntezy i uwalnianie cytokin jak IL-1, IL-2 i IL-6 [22].

Obecnie przyjmuje się, że sygnał inicjujący aktywację limfocytów B do syntezy przeciwciał, jest związany ze stymulacją przez IL-1 immunokompetentnych limfocytów T. Aktywujące działanie jest nasilone w obecności IL-6, która jest również odpowiedzialna za

zróżnicowanie limfocytów B w kierunku komórek uwalniania immunoglobulin klasy IgG i IgM [57-59].

O właściwościach modulujących dimeru lizozymu (KLP-602) świadczą liczne badania wykonane na rybach [60-64]. Modulator podawany przed lub po eksperymentalnej intoksykacji czynnikami chemicznymi np. chemioterapeutykami, pestycydami oraz biologicznymi np. wirusami, korygował upośledzoną aktywność immunologiczną, stymulując nieswoiste komórkowe i humoralne mechanizmy obronne [47, 48, 51, 65, 66.]. Ponadto stwierdzono, że podanie dimeru lizozymu zarówno przed jak i po zastosowaniu szczepienia, wzmacnia jego działanie, przy czym wyższy efekt stymulacji obserwowano w grupie ryb, która otrzymała biostymulator przed immunizacją [50, 63, 64, 67]. Z piśmiennictwa wynika, że dimer lizozymu (Lydium-KLP) wzmacnia naturalne mechanizmy obronne żywego organizmu, przy prawidłowej jak i zaburzonej homeostazie oraz obniżonej odporności [21, 22, 25, 26, 63, 68 69].

WNIOSKI

1. Dimer lizozymu podany dożylnie zdrowym królikom dwukrotnie w jednorazowych dawkach, zmniejsza w zakresie wartości referencyjnych liczbę krwinek czerwonych, stężenie hemoglobiny i wartość hematokrytu oraz zwiększa wartości wskaźników czerwonekrwinkowych. Wyrównanie ich do wartości wyjściowej nastąpiło po 7 dobach od II iniekcji.
2. Dimer lizozymu podany dożylnie nie zmienia istotnie liczby białych krwinek. W układzie białokrwinkowym zwiększa odsetek limfocytów, a zmniejsza odsetek neutrocytów w zakresie wartości referencyjnych.
3. Dimer lizozymu podany dożylnie zwiększa stężenie białka całkowitego, stężenia IgM i IgG jak również stężenie składowej układu dopełniacza C4, ale nie wpływa na zwiększenie aktywności enzymów aminotransferazy alaninowej i asparaginianowej oraz glutaminianowej.
4. Zmiany w wartościach oznaczonych parametrów krwi różnią się między iniekcjami dimeru lizozymu. II iniekcja wywołała szybszą reakcję organizmu w zakresie badanych parametrów, a czas trwania zmian był krótszy niż w analogicznym okresie po I iniekcji.

LITERATURA

- [1] Berg J. M., Tymoczko J. L., Stryer L.: Biochemistry. 6th edition. W. H. Freeman and Company, New York , 2006.
- [2] Gilquin B., Guilbert C., Perahia D.: Unfolding of hen egg lysozyme by molecular dynamics simulations at 300K: insight into the role of the interdomain interface. *Proteins* (2000), 41, 58-74.
- [3] Kowalska M.: Polimorfizm lizozymu. *Med. Wet.* (1983), 43, 661-663.
- [4] Kowalska M.: Właściwości immunologiczne lizozymu. *Med. Wet.* (1989), 45, 323-27.
- [6] Wiśłowska M., Smirnow J.: Lizozym i jego znaczenie biologiczne. *Reumatologia* (2000), 38, 368-372.
- [7] Delfini C., Cersosimo M., Del Prete V., Strano M., Gaetano G., Pagliara A., Ambro S.: Resisrance screening essay of wine lactic acid bacteria on lysozyme: efficacy of lysozyme in unclarified grape musts. *J. Agric. Food Chem.* (2004), 52. 1861-1866.
- [8] Jakubowski K., Jadlińska-Krakovska M., Siwicki A. K.: The level of some acute phase proteins, total protein, γ -globulins and activity of lysozyme in blood plasma of rats supplemented with vitamin E and exposed to ozone. *Pol. J. Vet. Sci.* (2004), 7, 283-287.
- [9] Kijowski J., Leśniewski G.: The use of lysozyme for food preservation and in medical diagnosis and pharmacology. *Biotechnology* (1995), 2, 130-140.
- [10] Kijowski J., Marciszewska C., Cegielska-Radziejewska R.: Quality and microbiological stability of chilled chicken breast muscles treated with a lysozyme solution. *Pol. J. Food Nutrition Sci.* (2002), 11/52, 47-54.
- [11] Malicki A., Jarmulok A., Brużewicz Sz.: Wpływ dodatku lizozymu na trwałość i bezpieczeństwo mikrobiologiczne kielbas w osłonie barierowej. *Acta Sci. Pol. Med. Vet.* (2003), 2, 29-36.
- [12] Nartowska J., Śiwicki A. K.: Apiterapia. W: Rola immunomodulatorów pochodzenia

- naturalnego w zapobieganiu i leczeniu chorób. Praca zbiorowa pod redakcją Skopińskiej-Różewskiej E., Siwickiego A. K, Medyk, Warszawa (2003), 105-120.
- [13] Wiśłowska M., Smirnow J.: Lizozym i jego znaczenie biologiczne. *Reumatologia* (2000), 38, 368-372.
- [14] Martorell A., Bone C.J, Ara G. M. C., Nevot F. S., Plaza M. A. M: Allergy to egg proteins. Food Allergy Committee of the Spanish Society of Pediatric Clinical Immunology and Allergy. *Allergol Immunopathol.* (2001), 29, 72-95.
- [15] Kijowski J., Leśniewski G., Fabisz-Kijowska A.: Lysozyme polymer formation and functionality of residuals after lysozyme extraction. In: *Egg Nutrition and Biotechnology*. Sim S., Nakai W., Guenter (Eds.). CAB International, Wallingford, U. 2000.
- [16] Nakamura S., Saito M., Goto T., Saeki H., Ogawa M., Gotoh M., Gohya Y, Hwang J. K: Rapid formation of biologically active neoglycoprotein from lysozyme and xyloglucan hydrolysates through naturally occurring Maillard reaction. *J. Food Sci. Nutr.* (2000), 5, 65-69.
- [17] Dziennik Ustaw Nr 180 /2005, poz.1499. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 26.08.2005 zmieniające rozporządzenie w sprawie znakowania środków spożywczych i dozwolonych substancji dodatkowych.
- [18] Świerczewska E., Niemiec J., Noworyta-Głowacka J.: A note on the effect of immunostimulation of laying hens on the lysosyme activity in egg white. *Anim. Sci Paper and Reports* 2003; 21: 63-68.
- [19] Świerczewska E , Kopec W., Noworyta-Głowacka J., Riedel J.: Aktywność biologicznie czynnych składników białka jaja w zależności od systemu utrzymywania kur. *Med. Wet.* (2003), 59, 157-160.
- [20] Cegielska-Radziejewska R., Leśniewski G., Kijowski J.: Antibacterial activity of lysozyme modified by the membrane technique. *J. Pol. Agric. Univers. Food Sci. Technol.* (2003), 6, 2 (on – line).

- [21] Kiczka W.: From lysozyme monomer to lysozyme dimer. Proc. XVIII Buiatrics Congres, Bologna, Italy (1994), 2, 897-900.
- [22] Kiczka W.: Dimer lizozymu – nowe możliwości terapeutyczne. W: Zakażenia - patogeneza i profilaktyka. Materiały Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej, Poznań (2001), 41-44.
- [23] Leśniewski G. J, Kijowski J.: Isolation of lysozyme from hen egg white by ion-exchange techniques and its spray drying dehydration. Pol. J. Food Nutrition. Sci. (2001), 2, 43-47.
- [24] Garbulinski T.: Lydium-KLP w farmakoterapii weterynaryjnej. Życie Wet. (1994), 69, 137-138.
- [25] Malinowski E.: Lydium-KLP - lek XXI wieku. Nowa Wet. (1999), 12, 32-35.
- [26] Malinowski E.: Lysozyme dimer in therapy and prophylaxis of animal diseases. Princeton, Poznań (2001).
- [27] Malinowski E.: Efektywność terapeutyczna dimeru lizozymu w infekcyjnych chorobach u zwierząt. W: Zakażenia – patogeneza i profilaktyka. Materiały Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej, Poznań (2001), 57-59.
- [28] Cąkała S.: Nowy preparat Lydium-KLP w leczeniu chorób zakaźnych zwierząt. Życie Wet. (1994), 69, 138-142.
- [29] Kiczka W., Dudko P.: Wpływ dożylnego podawania Lydium-KLP na wybrane parametry kliniczne i laboratoryjne u zdrowych cieląt. Życie Wet. (1994), 69, 190-192.
- [30] Kiczka W., Malinowski E., Biegała T., Woźniak K., Branicki T., Markiewicz H.: Wpływ Lydium-KLP na aktywność fagocytarną leukocytów krwi i mleka *in vitro*. Życie Wet. (1994), 69, 155-158.
- [31] Kiczka W., Malinowski E., Kuźma K., Branicki T., Szalbierz M.: Wpływ iniekcji Lydium-KLP na wybrane wskaźniki aktywności fagocytarnej leukocytów krwi cieląt. Życie Wet. 1994; 69: 151-154.

- [32] Malinowski E., Kłossowska A.: Number and phagocytic activity of somatic cells in mastitis milk and the efficacy of Lydium – KLP in treatment of clinical mastitis in cows. Bull Vet. Inst .Pulawy (1997), 41, 49-53.
- [33] Malinowski E., Kiczka W., Kondracki M., Pilaszek J., Nadolny M., Branicki T., Kuźma R.: Przydatność Lydium – KLP w leczeniu odoskrzelowego zapalenia płuc cieląt. Życie Wet. (1994), 69, 175-178.
- [34] Kiczka W., Wiśniewski E., Krumrych W., Danek J., Dąbrowska J.: Wstępna ocena nieszkodliwości Lydium-KLP oraz jego wpływu na niektóre wskaźniki odporności nieswoistej u źrebiąt. Życie. Wet. (1994), 69, 149-154.
- [35] Dembiński Z., Bronicki M.: Zastosowanie Lydium-KLP w profilaktyce niektórych zespołów chorobotwórczych okresu okołoporodowego u świń. Acta Acad. Agricult. Techn. Olst. Vet. (1996), 23, 201-207.
- [36] Dembiński Z., Bronicki M.: Zastosowanie Lydium-KLP w profilaktyce zespołów chorobowych okresu odsadzeniowego u prosiąt. Acta Acad. Agricult. Techn. Olst. Vet. (1996), 23, 209-213.
- [37] Mukezamfura P., Fiołka M., Zięba P., Studziński T.: Wpływ Lydium-KLP i LPS na regulację temperatury i odpowiedź humoralną u królików. Med. Wet. (1996), 52, 783-785.
- [38] Madej J. A., Klimentowski S., Kuryszko J., Rypuła K., Kiczka W.: Effect of Lydium–KLP on the course of experimental infection of mice with influenza virus. Zesz. Nauk. Akademii Rolniczej, Wrocław (1996), 55, 34-41.
- [39] Nadolny M., Niewitecki W.: Lydium-KLP w profilaktyce bronchopneumonii cieląt. Życie Wet. (2000), 75, 276-278.
- [40] Kiczka W., Pomorski Z., Taszkun I., Milczak A., Sitkowski W.: Wpływ Lydium-KLP na wybrane wskaźniki nieswoistej odpowiedzi komórkowej u zdrowych psów. Życie Wet. 1994; 69: 145-148.
- [41] Borzemska W., Karpińska E., Świerczewska E., Kosowska G., Szeleszczuk P., Malec H., Malicka E., Binek M., Niedziółka J.: Wpływ dimeru lizozymu (Lydium-KLP) na

- zarodki kurze. Med. Wet. (1997), 53, 606-610.
- [42] Stanisław A: Przystępny kurs z wykorzystaniem programu Statistica na przykładach z medycyny. Tom I, Statsoft, Kraków 2000.
- [43] Bielaś W., Dubiel A., Nizański W.: Wpływ dimeru lizozymu na jakość w niskich temperaturach konserwowanego nasienia knura. Med. Wet. (2003), 59, 259-263.
- [44] Krakowski L, Krzyżanowski J, Wrona Z, Siwicki AK, Krakowski M: Wpływ podania ciężarnym loch wybranych immunostymulatorów na parametry immunologiczne siary. Med. Wet. (1999); 55, 608-610.
- [45] Samorek-Salomonowicz E., Czajka H., Kozdruń W., Wilczyńska-Kowal M.: Wpływ immunostymulatorów na serokonwersję po szczepieniu przeciw chorobie Derzyego u gęsi. Med. Wet. (2000), 56, 103-106.
- [47] Samorek-Salomonowicz E., Czajka H., Kozdruń W.: Immunomodulacja gęsi stad reprodukcyjnych, a odporność matczyna przeciwko chorobie Derzyego u potomstwa. Med. Wet. (2001), 57, 836-839.
- [48] Wójcik R., Święcicka-Grabowska G.: Parametry biochemiczne oraz odporności nieswoistej u indyków uodpornionych wirusem ND po podaniu KLP-602 *Mycobacterium chelonae*. Med. Wet. (2006), 62, 830-833.
- [49] Wójcik R., Święcicka-Grabowska G.: Wpływ KLP-602 i *Mycobacterium chelonae* na odporność swoistą u indyków szczepionych wirusem ND. Med. Wet. (2006), 62, 922-924.
- [50] Wójcik R., Święcicka-Grabowska G.: A comparison of the level of immunity antiviral parameters in turkeys stimulated with levamisole and KLP-602. Pol. J. Vet. Sci. (2001), 4, 182-184.
- [55] Siwicki A. K., Klein P., Morand M., Kiczka W., Studnicka M.: Immunostimulatory effects of dimerized lysozyme –(KLP-602) on the nonspecific defense mechanisms and protection against furunculosis in salmonids. Vet. Immunol. Immunopathol. (1998), 61, 369-378.
- [52] Siwicki A. K., Pat-Samoraj A.: Immunomodulacja u psów-aktualny stan wiedzy.

- Magazyn. Wet. (2000), supl. 48-50.
- [53] Starosławska E., Roszkowski J., Kozaczyński W., Donica H., Bachanek T., Jarmolińska K., Bożyk A.: Influence of Lydium-KLP upon morphology of lung tissue and serum cytokine level in irradiated rats. *Bull. Vet. Inst. Puławy* (2001), 45, 75-87.
- [54] Wójcik R., Markiewicz W., Malaczewska J., Chrostowska M., Maślanka T., Rotkiewicz Z., Jaroszewski J., Siwicki J. K.: Wpływ meloksykamu na nieswoiste komórkowe i humoralne mechanizmy obronne u bydła. *Med. Wet.* (2006), 62, 1400-1402.
- [55] Siwicki A. K, Studnicka A. K, Morand M. , Studnicka M.: In vitro effects of monomer and dimerized lysozyme on the polymorphnuclear (PMN) and mononuclear (MN) cells activity. In: *Modulators of Immune Responses-The Evolution Trail*. Editors: Stolen J. S., Fletcher T. C., Bayne C.J., Secombes C. J., Zelikoff J. T., Twerdok L. E.
- [56] Obmińska-Domoradzka B., Świtała M., Dębowy J.: Modulation of secondary antibody response in SRBC-immunized mice by lysozyme dimer. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* (1997), 19, 489-498.
- [57] Obmińska-Domoradzka B., Świtała M., Dębowy J.: Wpływ wielokrotnego podawania dimeru lizozymu na pierwotną odpowiedź humoralną myszy immunizowanych SRBC. *Med. Wet.* (1998), 54, 757-760.
- [58] Obmińska-Domoradzka B., Świtała M., Kiczka W., Dębowy J., Garbuliński T.: Modulating effect of Lydium-KLP on humoral response od SRBC- immunized mice. *Pol. J. Pharmacol.* (1994) 46, 358-359.
- [59] Obmińska-Domoradzka B., Świtała M., Kostka M., Grabowski T., Dębowy J.: Effect of lysozyme dimer on secondary humoral response of SRBC-immunized mice. *Polish J Vet. Sciences* (1998), 1, 23-27.
- [60] Obmińska-Mrukowicz B., Szczypka M., Gawęda B.: Modulation of murine makrophages and T lymphocytes by lysozyme dime. *Pol. J. Vet. Sci.* (2002), 5, 237-241.
- [61] Malaczewska J., Rotkiewicz Z.: Modulative influences of lysozyme dimer on defence mechanisms in the carp (*Cyprinus carpio*) and European sheatish (*Silurus glanis*) after

- suppression induced by herbicide Roundup. *Pol. J. Vet. Sci.* (2004), 7, 123-128.
- [62] Malaczewska J., Rotkiewicz Z.: Biological properties of Roakin strain of NDV and TK900 strain of ADV after serial passages in CECC in the presence of methisoprinol and KLP-602. *Pol. J. Vet. Sci.* (2005), 8, 23-28.
- [63] Morand M., Siwicki A. K., Pozet F., Klein P., Vinaize J., Keck N.: Effect of dimerized lysozyme (KLP-602) on the cellular and humoral defence mechanisms in sheatfish (*Silurus glanis*): in vitro and vivo study. *Vet. Res.* (1999), 30, 411-418.
- [64] Rymuszka A., Śiwicki A. K.: Immunomodulatory activity of the dimerized lysozyme KLP-602 after earlier suppression by atrazine in carp (*Cyprinus carpio* L). *Pol. J. Sci.* (2003), (3 suppl), 43-46.
- [65] Rymuszka A., Studnicka M., Siwicki A.K., Sierosławska A., Bownik A.: The immunomodulatory effects of the dimer of lysozyme (KLP-602) in carp (*Cyprinus carpio* L) in vivo study. *Ecotoxicol Environ Saf* 2005; 61: 121-127.
- [66] Studnicka M., Dunier M., Śiwicki A. K., Morad M.: Application of biostimulants in reaktifying of immunological reactivation handicapped by phosphoroorganic pesticides. In: *Effects of Xenobiotics on the Immune System*. Edited by Śiwicki A. K., Irys, Olsztyn (1997), 187-194.
- [67] Rymuszka A., Śiwicki A.K.: Immunomodulatory activity of the dimerized lysozyme KLP-602 after earlier suppression by atrazine in carp (*Cyprinus carpio* L). *Pol. J. Sci.* (2003), (3suppl), 43-46.
- [68] Rymuszka A., Studnicka M., Siwicki A. K., Sierosławska A., Bownik A.: The immunomodulatory effects of the dimer of lysozyme (KLP-602) in carp (*Cyprinus carpio* L) in vivo study. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* (2005), 61, 121-127.
- [69] Siwicki A. K., Studnicka A. K., Morand M., Rymuszka A., Bownik A., Terech-Majewska E.: Modulation of cellular and humoral immune responses after suppression induced by chemotherapeutics-experimental study. In: *Effects of Xenobiotics on the*

Immune System. Edited by Śiwicki A. K., Irys, Olsztyn (1997), 175-186.

- [70] Wójcik R., Markiewicz W., Malaczewska J., Chrostowska M., Maślanka T., Rotkiewicz Z., Jaroszewski J., Siwicki J. K.: Wpływ meloksykamu na nieswoiste komórkowe i humoralne mechanizmy obronne u bydła. Med. Wet. (2006), 62, 1400-1402.

Adres autorki

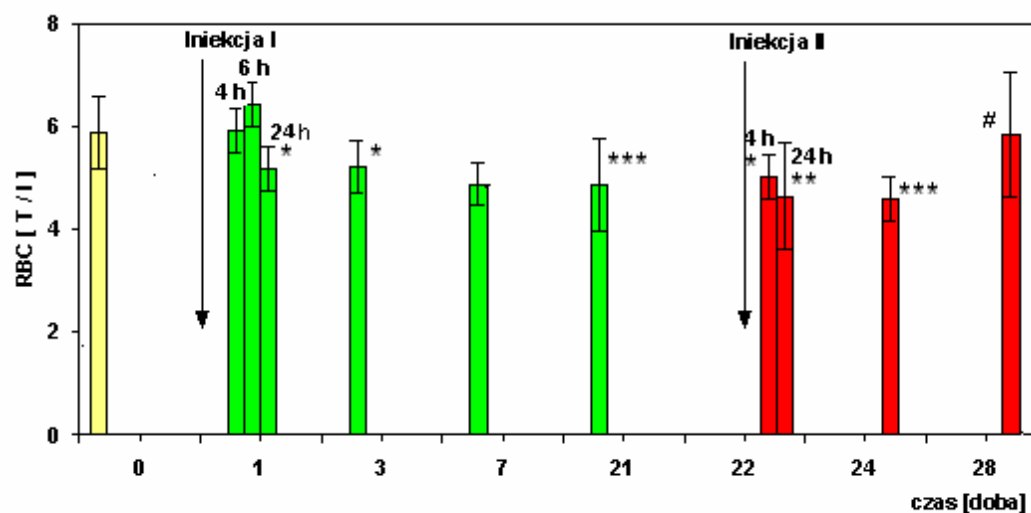
Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów

Wydział Lekarsko-Stomatologiczny Akademii Medycznej

ul. Poniańskiego 2, 50-352 Wrocław

tel: 071 7840135

e-mail: biochem@cheksp.am.wroc.pl



Wykres 1. Liczba krwinek czerwonych - RBC we krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

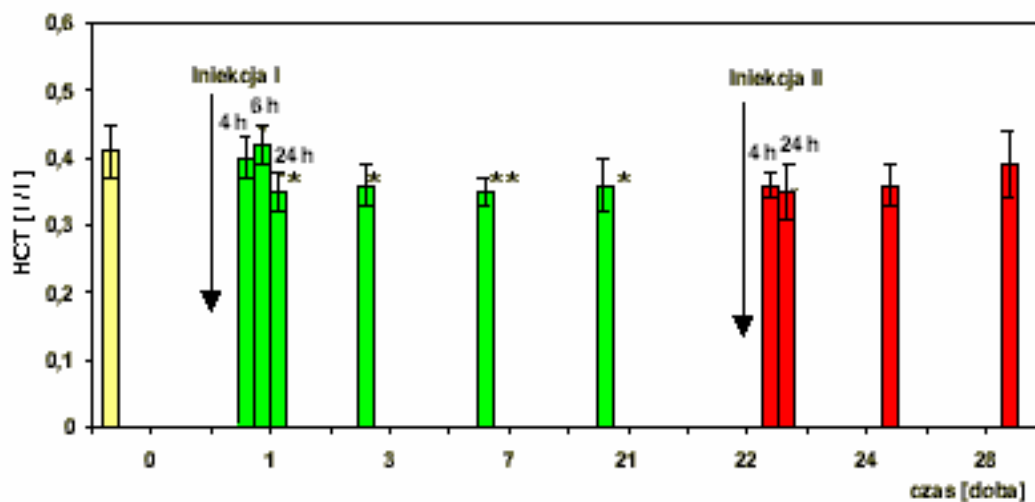
* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

$p < 0,05$ - poziom istotności względem wartości w 21 dobie

Graph 1. Red blood cells number - RBC in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - differences in relation to the primary value (time 0)

$p < 0,05$ – differences in relation to the of 21 day value

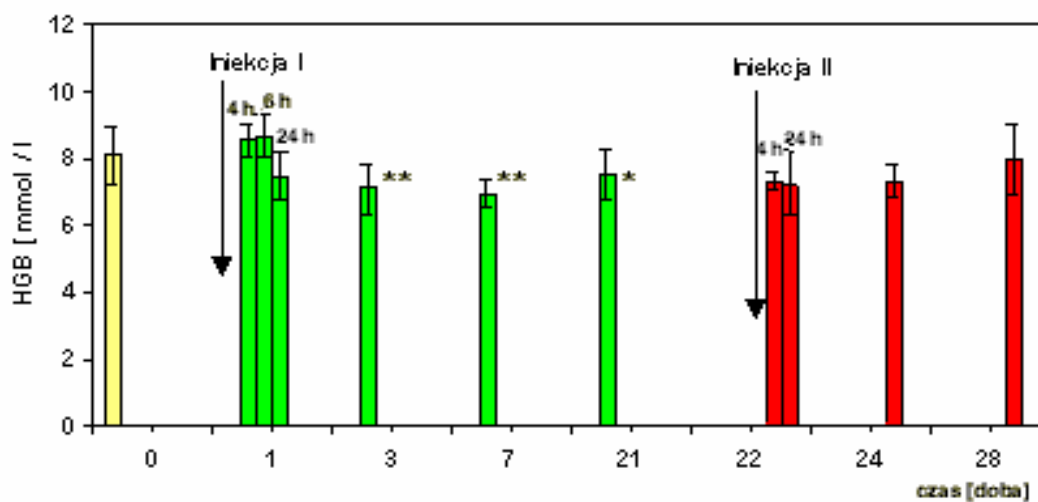


Wykres 2. Wartość hematokrytu krwi - HCT we krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

Graph 2. Hematocrit value - HCT in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - differences in relation to the primary value

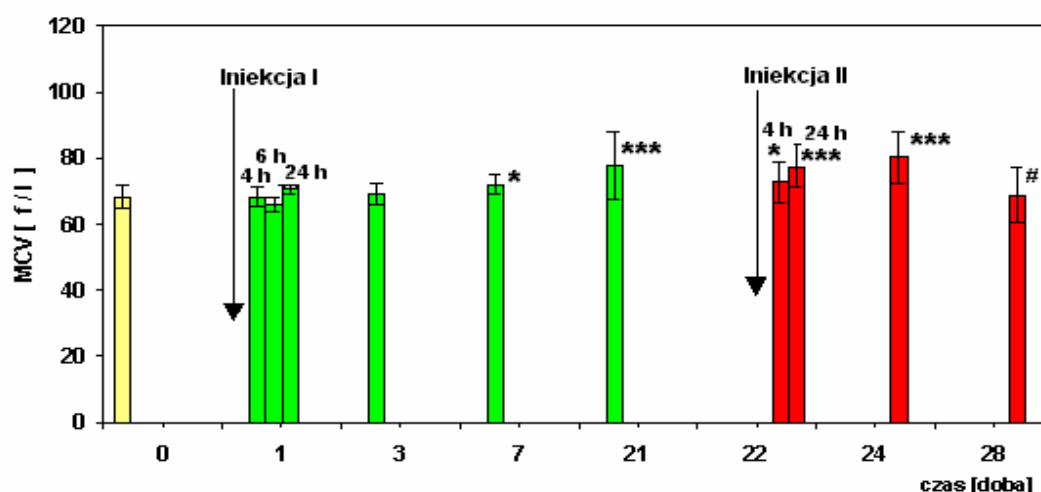


Wykres 3. Stężenie hemoglobiny - HGB we krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu.

* $p < 0,05$, ** $p \leq 0,01$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

Graph 3. Hemoglobin concentration - HGB in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - differences in relation to the primary value



Wykres 4. Średnia objętość krwinki czerwonej - MCV we krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

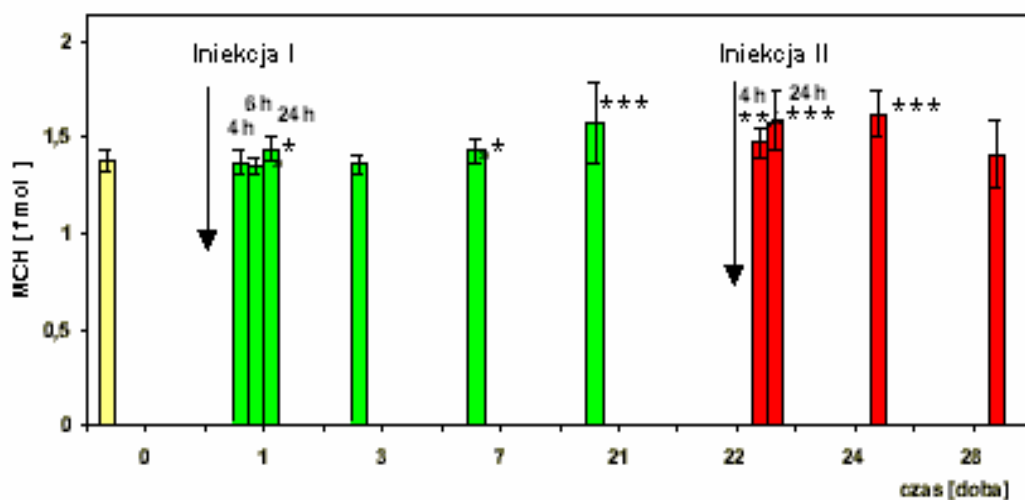
* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

$p < 0,05$ - poziom istotności względem wartości w 21 dobie

Graph 4. Mean red cells volume - MCV in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ - differences in relation to the primary value

$p < 0,05$ - difference in relation to the of 21 day value

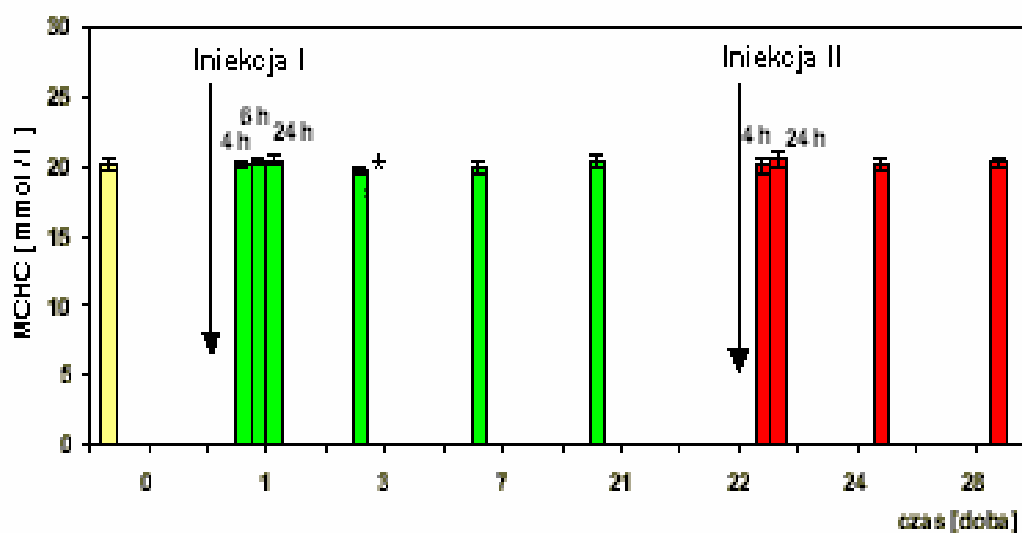


Wykres 5. Średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej - MCH we krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

Graph 5. Mean corpuscular hemoglobin in red cell - MCH in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - differences in relation to the primary value

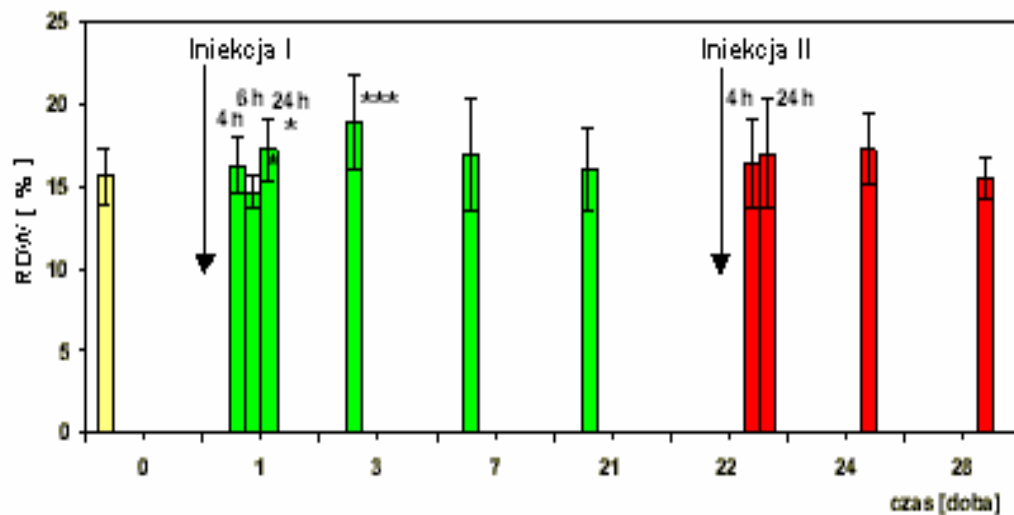


Wykres 6. Średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej - MCHC krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

* $p < 0,05$ - poziom istotności względem wartości wyjściowej

Graph 6. Mean corpuscular hemoglobin concentration in red blood cells - MCHC in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$ - difference in relation to the primary value

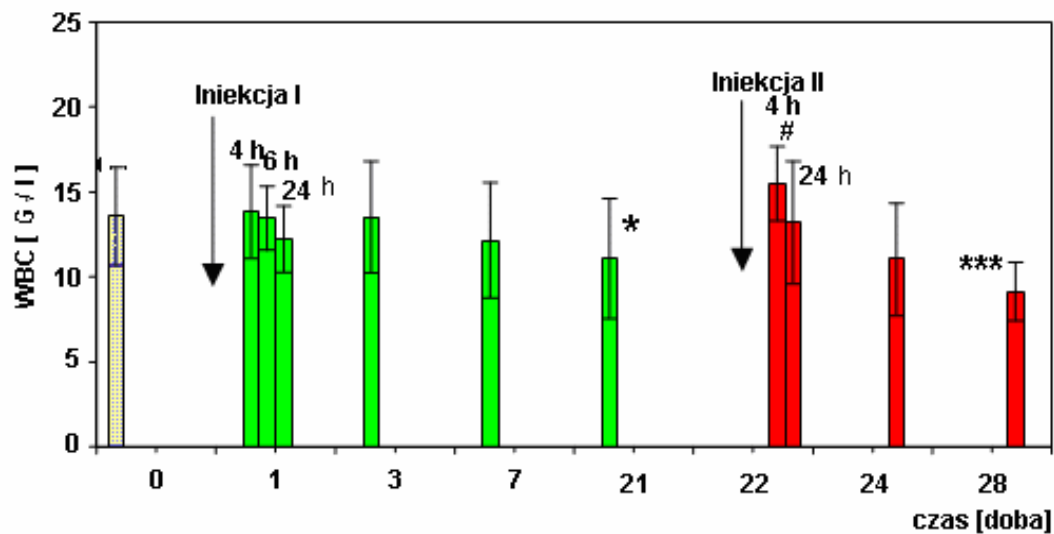


Wykres 7. Wskaźnik anizocytozy krwinek czerwonych - RDW krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

Graph 7. Red blood cells distribution width - RDW in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ - differences in relation to the primary value



Wykres 8. Liczba krwinek białych - WBC we krwi królików przed (wartość wyjściowa) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

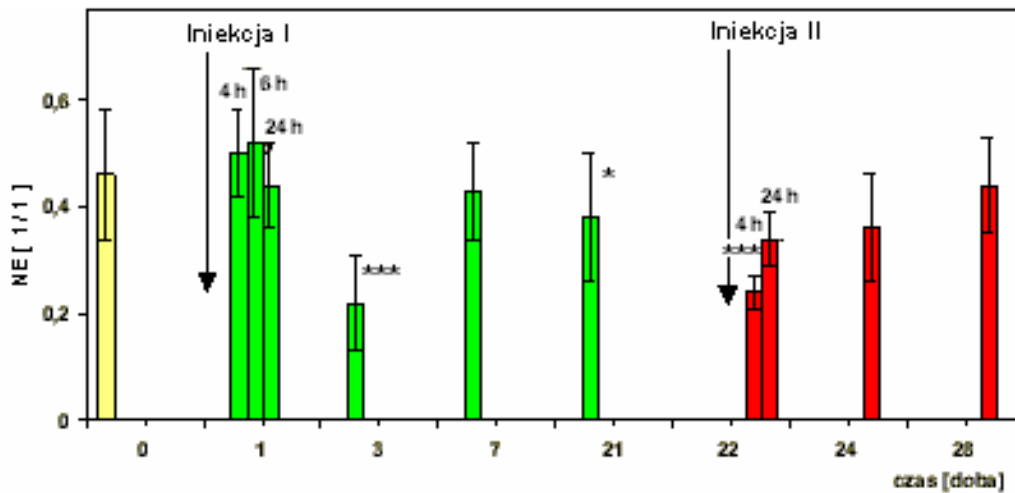
* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

$p < 0,05$ – poziom istotności względem wartości w 21 dobie

Graph 8. White blood cells number -WBC in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ - differences in relation to the primary value

$p < 0,05$ - difference in relation to the of 21 day value

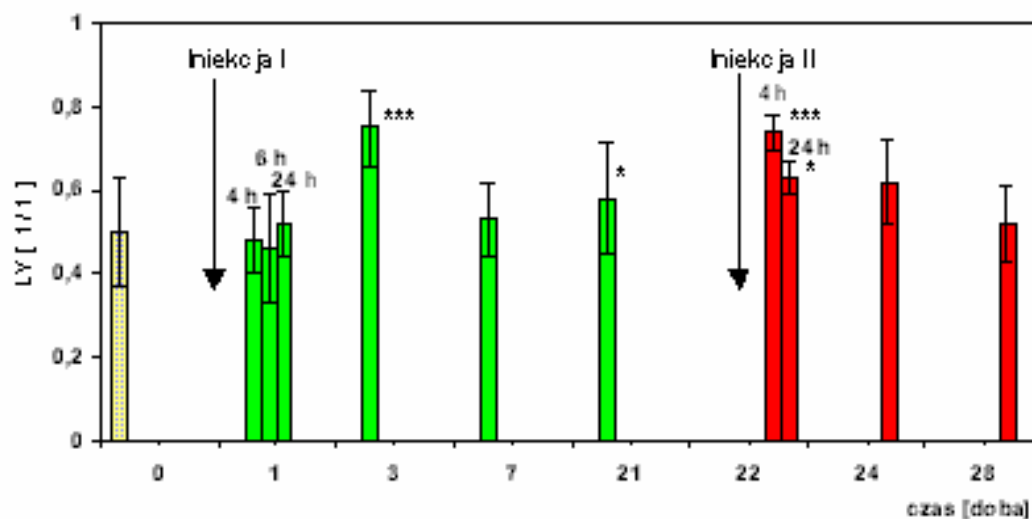


Wykres 9. Względna wartość neutrocytów - NE we krwi królików przed (wartość wyjściowa) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ - poziom istotności względem wartości wyjściowej

Graph 9. Neutrophils relative value - NE in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ - differences in relation to the primary value

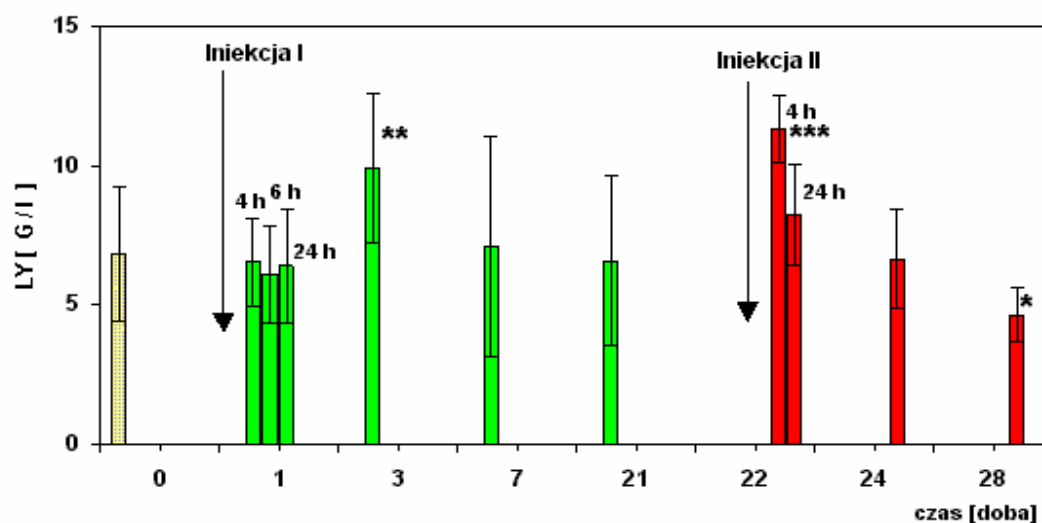


Wykres 10. Względna wartość limfocytów - LY we krwi królików przed (wartość wyjściowa) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ - poziom istotności względem wartości wyjściowej

Graph 10. Lymphocyte relative value - LY in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ - differences in relation to the primary value

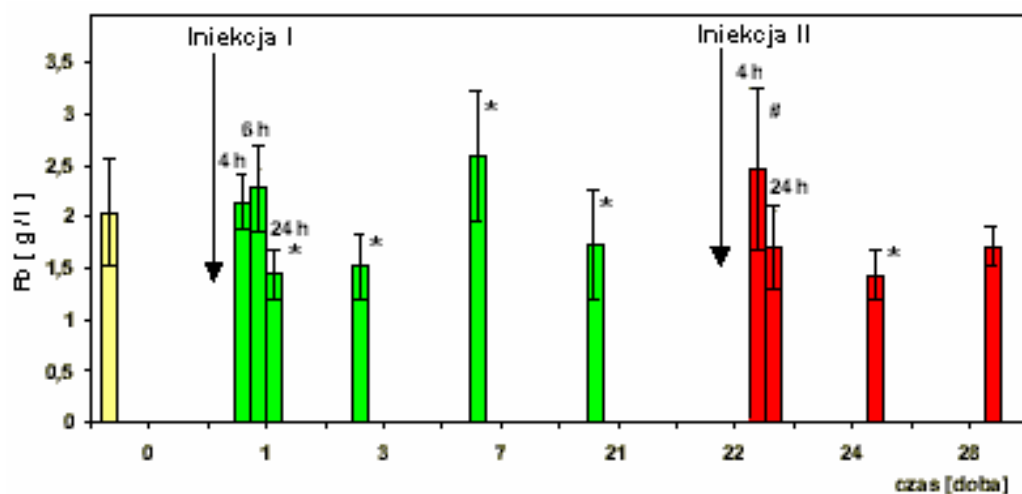


Wykres 12. Bezwzględna wartość limfocytów - LY we krwi królików przed (wartość wyjściowa) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

Graph 12. Lymphocyte absolute value in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - differences in relation to the primary value



Wykres 13. Stężenie fibrynogenu - Fb w osoczu krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

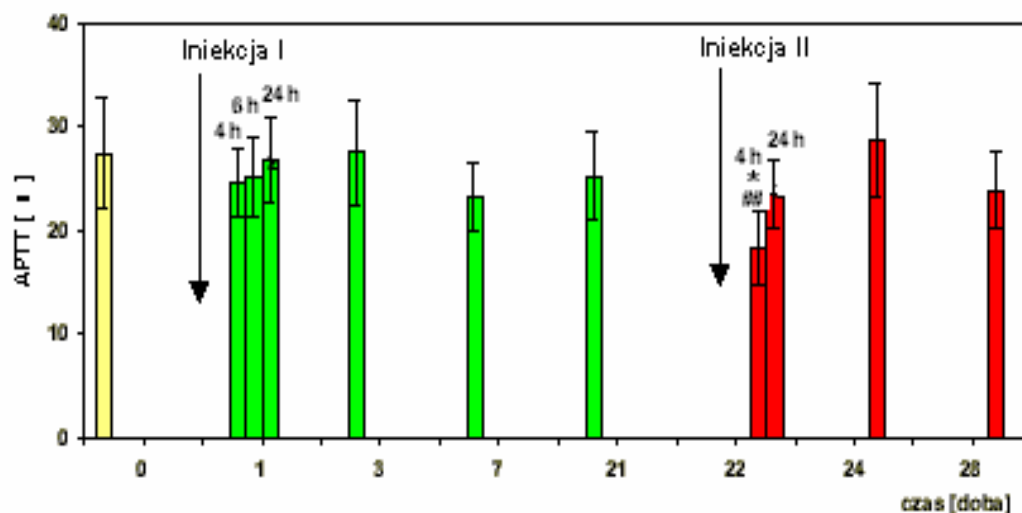
* $p < 0,05$ - poziom istotności względem wartości wyjściowej

$p < 0,05$ - poziom istotności względem wartości w 21 dobie

Graph 13. Fibrinogen concentration – Fb in the rabbit plasma blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$ - difference in relation to the primary value

$p < 0.05$ - difference in relation to the of 21 day value



Wykres 14. Czas kaolinowo-kefalinowy - APTT osocza krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) funkcji czasu

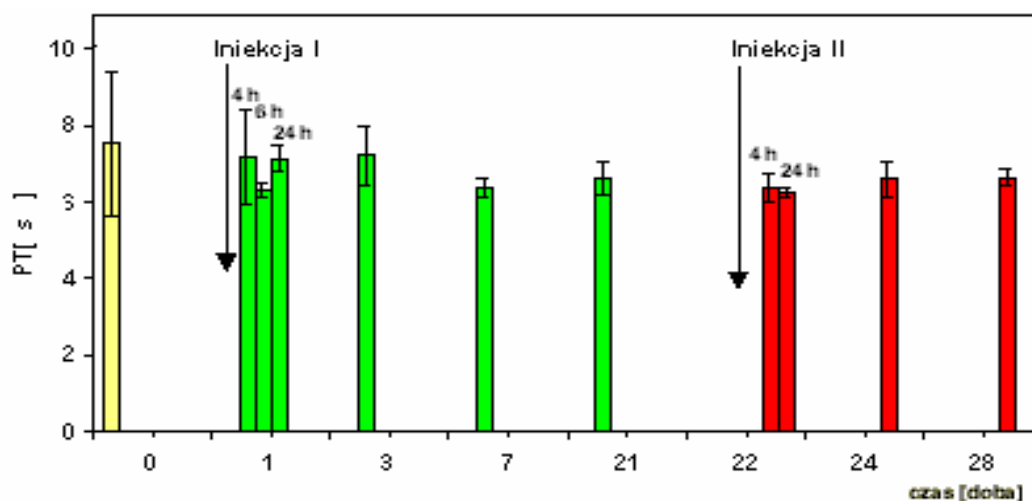
* $p < 0,05$ - poziom istotności względem wartości wyjściowej

$p < 0,05$ - poziomy istotności względem wartości w 21 dobie

Graph 14. Activated partial thromboplastin - APTT in the rabbit plasma blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$ - difference in relation to the primary value

$p < 0,05$ - differences in relation to the of 21 day value

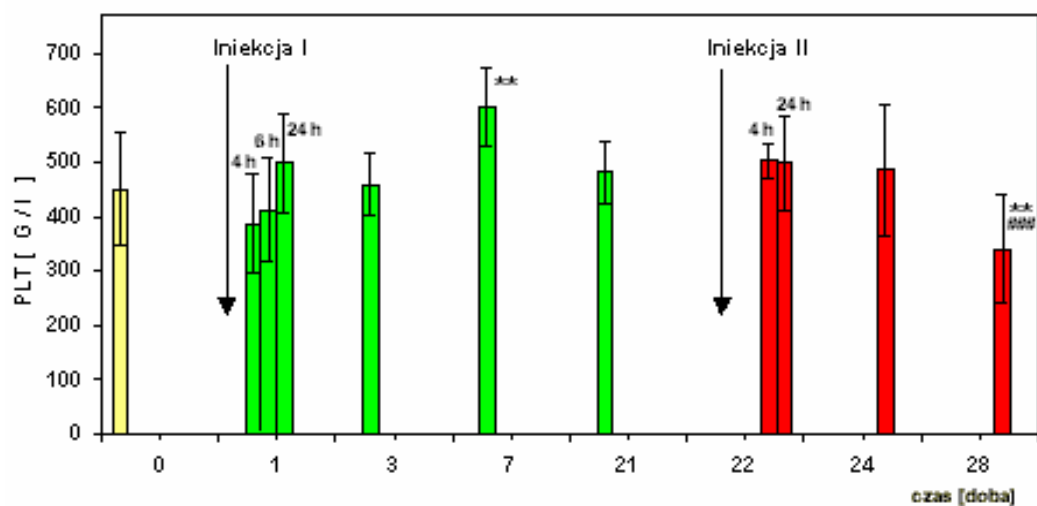


Wykres 15. Czas protrombinowy - PT osocza krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

* $p < 0,05$ - poziom istotności względem wartości wyjściowej

Graph 15. Prothrombin time - PT in the rabbit plasma blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$ - difference in relation to the primary value



Wykres 16. Liczba płytek krwi - PLT we krwi królików przed (wartości wyjściowe) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

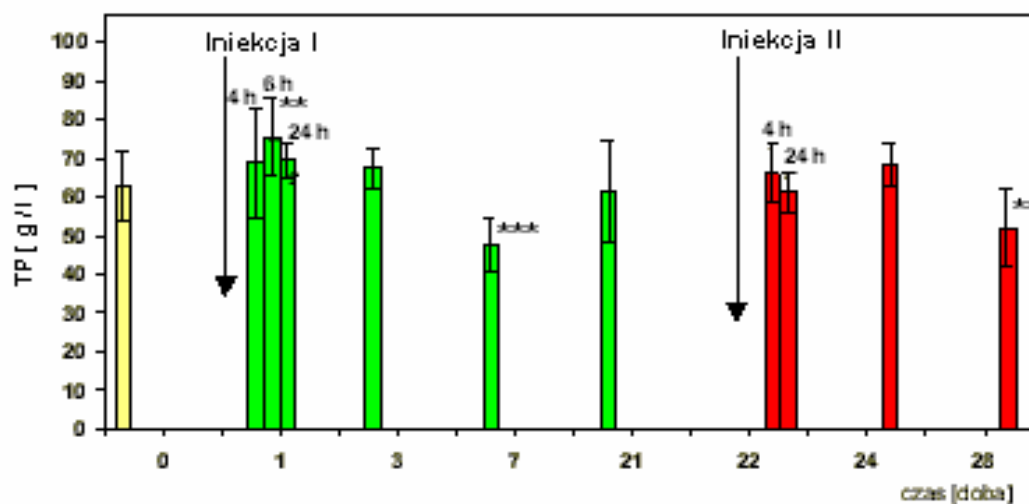
** $p < 0,01$ - poziom istotności względem wartości wyjściowej

$p < 0,001$ - poziom istotności względem wartości w 21 dobie

Graph 16. Blood platelets number - PLT in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

** $p < 0,01$ - difference in relation to the primary value

$p < 0.001$ - difference in relation to the of 21 day value

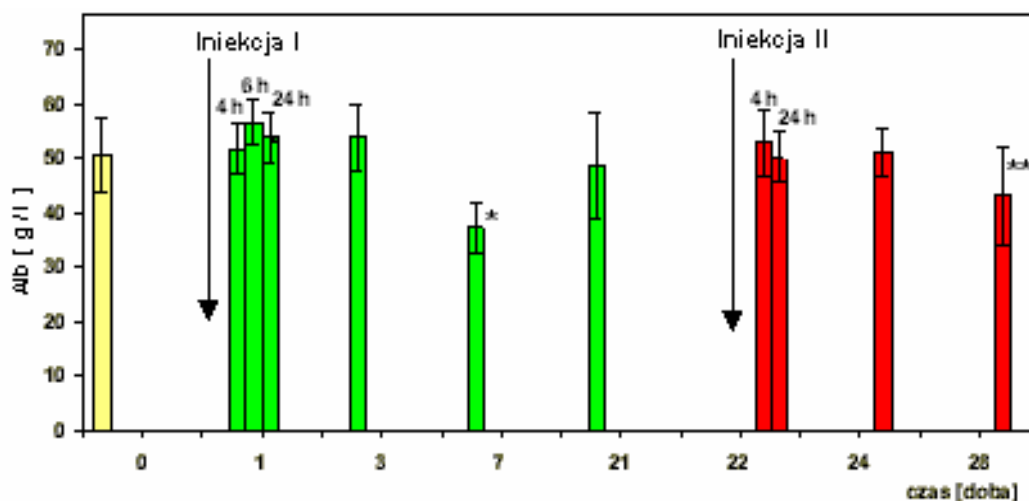


Wykres 17. Stężenie białka całkowitego - TP w surowicy krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

Graph 17. Total protein concentration - TP in the rabbit serum blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - differences in relation to the primary value

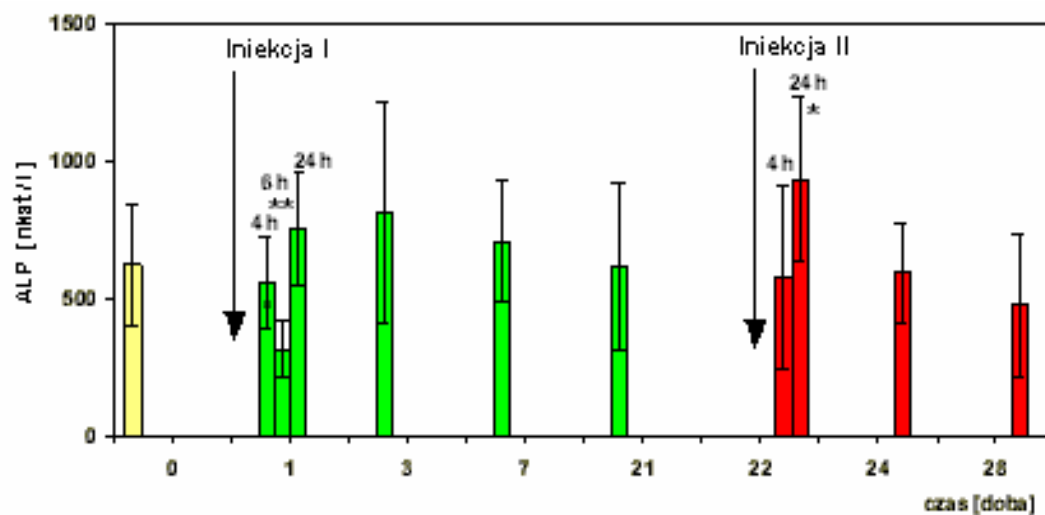


Wykres 18. Stężenie albumin - Alb w surowicy krwi królików przed (wartości wyjściowe, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

Graph 18. Albumin concentration - Alb in the rabbit serum blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - differences in relation to the primary value

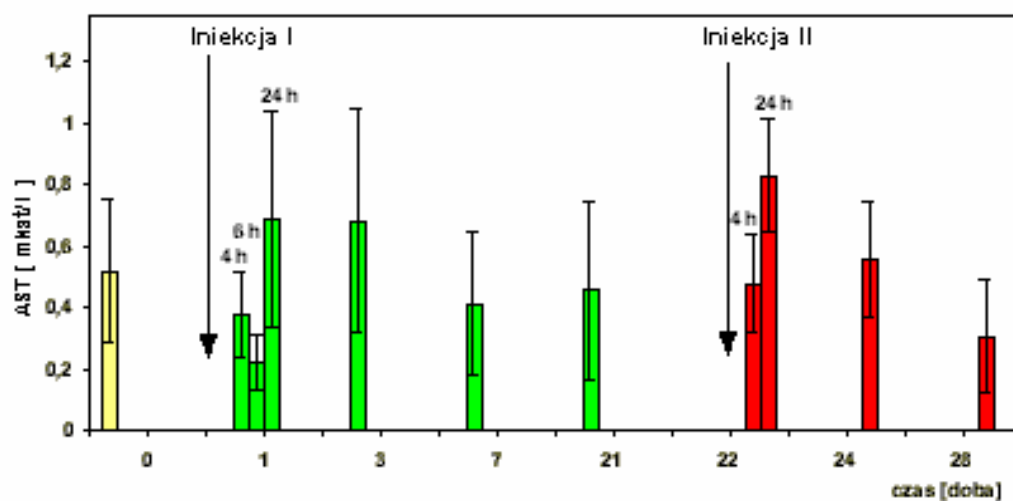


Wykres 19. Aktywność fosfatazy zasadowej - ALP w surowicy krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - różnice istotne w odniesieniu do wartości wyjściowej

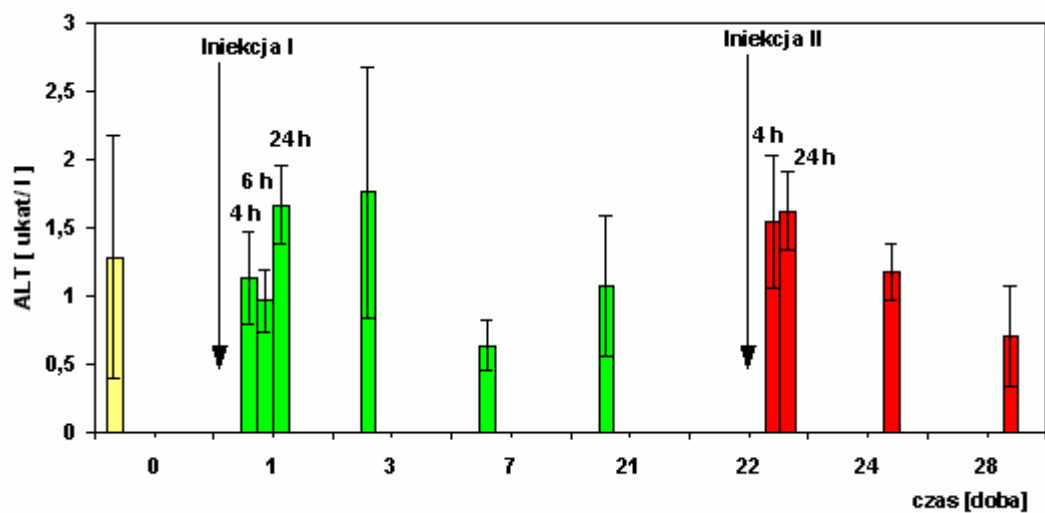
Graph 19. Alkaline phosphatase activity - ALP in the rabbit blood serum before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - differences in relation to the primary value



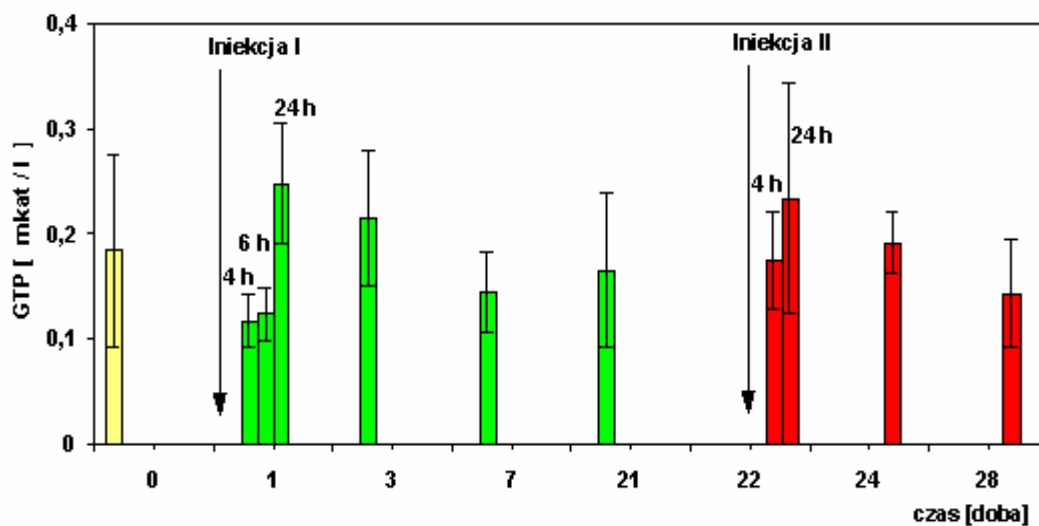
Wykres 20. Aktywność aminotransferazy asparaginianowej - AST w surowicy krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

Graph 20. Asparagine aminotransferase activity - AST in the rabbit serum blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function



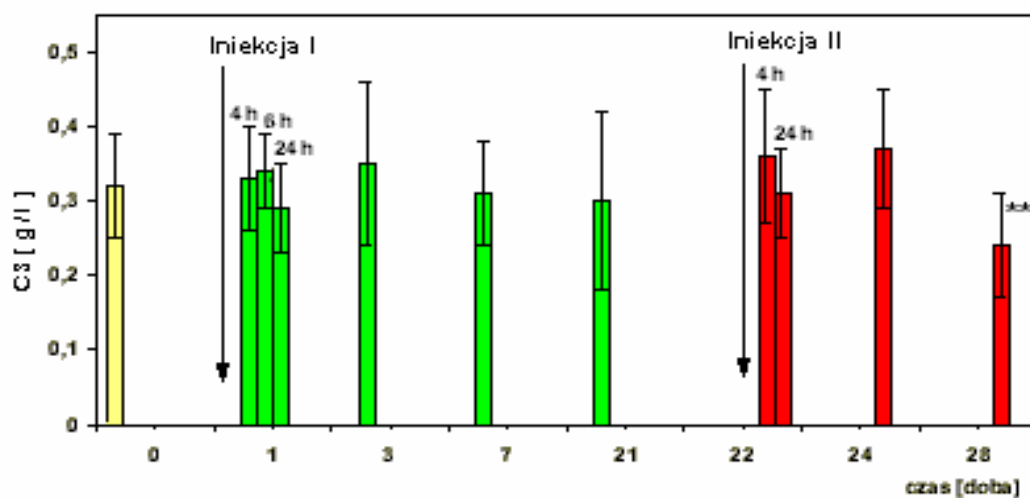
Wykres 21. Aktywność aminotransferazy alaninowej - ALT w surowicy krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

Graph 21. Alanine aminotransferase activity - ALT in the rabbit serum blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function



Wykres 22. Aktywność gama-glutamylotransferazy- GTP w surowicy krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

Graph 22. Gamma-glutamylotransferase activity - GTP in the rabbit serum blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

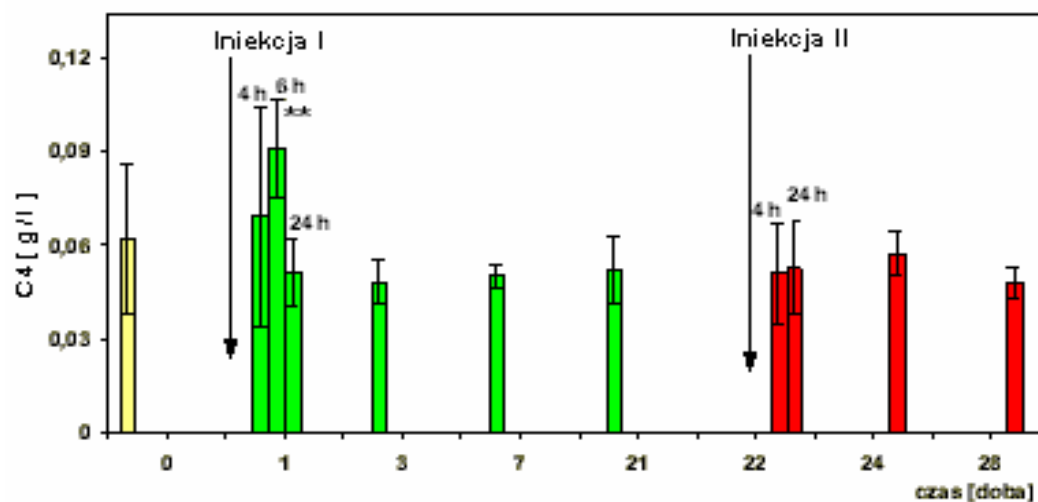


Wykres 23. Stężenie składowej dopełniacza C3 - C3 w surowicy krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

** $p < 0,01$ - poziom istotności względem wartości wyjściowej

Graph 23. Complement C3 components concentration - C3 in the rabbit serum blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

** $p < 0,01$ - difference in relation to the primary value

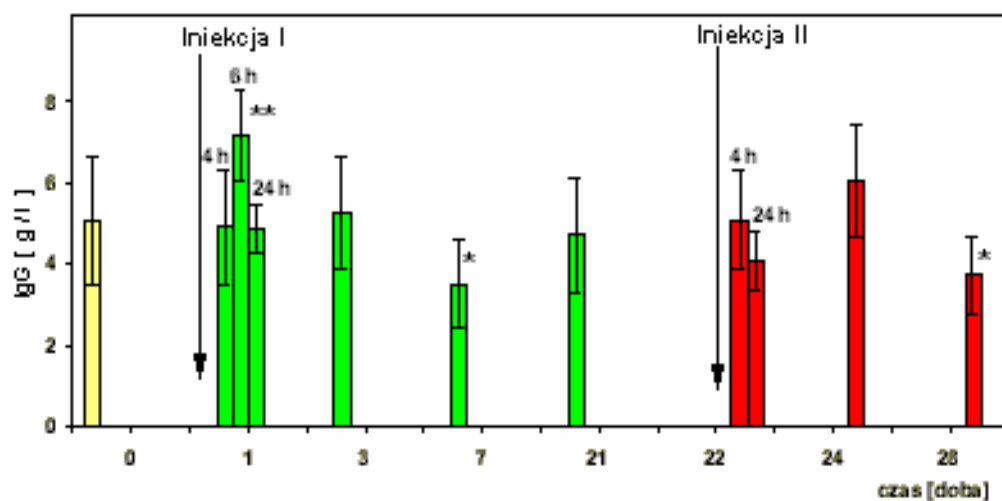


Wykres 24. Stężenie składowej dopełniacza C4 w surowicy krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

** $p < 0,01$ - poziom istotności względem wartości wyjściowej

Graph 24. Complement C3 components concentration - C3 in the rabbit serum blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

** $p < 0,01$ - difference in relation to the primary value

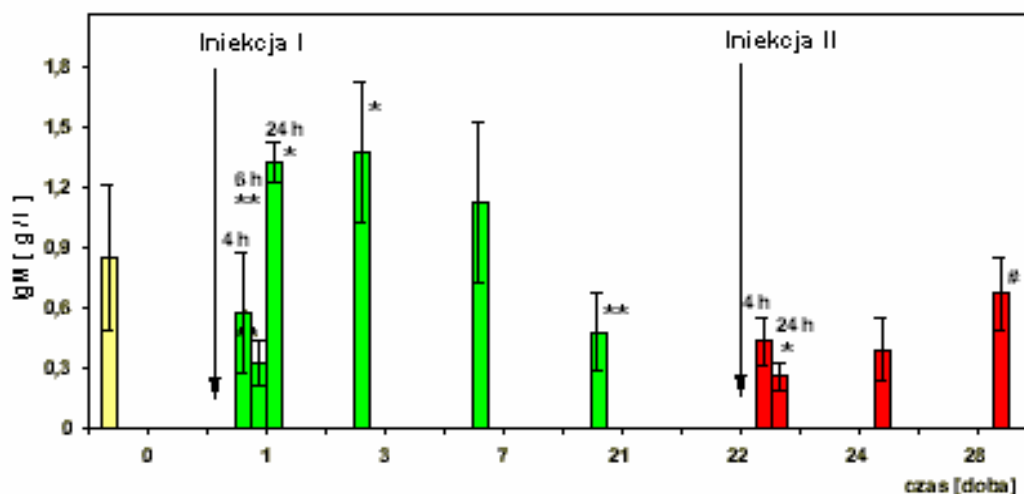


Wykres 25. Stężenie immunoglobulin G - IgG w surowicy krwi królików przed (wartość wyjściowa, czas 0) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP, 0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

Graph 25. Immunoglobulin G concentration - IgG in the rabbit serum blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - differences in relation to the primary value



Wykres 26. Stężenie immunoglobulin M - IgM w surowicy krwi królików przed (kontrola) oraz po iniekcji dimeru lizozymu (0,02 mg/kg m.c.) w funkcji czasu.

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ - poziomy istotności względem wartości wyjściowej

$p < 0,05$ - poziom istotności względem wartości w 21 dobie

Graph 26. Immunoglobulins G concentration - IgM in the rabbit serum blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ - differences in relation to the primary value

$p < 0,05$ - difference in relation to the of 21 day value

TABELA 1. Podział grupowy zwierząt

TABLE 1. Group division of animals

Procedura badania Studys procedure	Czas Time	Liczba zwierząt Animals number	
		Badania krwi Blood studies	Badania histologiczne Histological studies
Kontrola/Control	0 godz. hour	34	-
I Iniekcja dimeru lizozymu I Injection of dimer lysozyme 0,02 mg/kg m.c (Lydium-KLP)	4 godz. hours	10	-
	6 godz. hours	6	2
	1 doba day	6	2
	3 doba days	6	3
	7 doba days	6	3
	21 doba days	21	3
II Iniekcja dimeru lizozymu II Injection of dimer lysozyme 0,02 mg/kg m.c (Lydium-KLP)	4 godz. hours (22 d-d)	4	4
	1 doba day (22 d-d)	4	4
	3 doba days (24 d-d)	4	4
	7 doba days (28 d-d)	9	4
Kontrola/Control		-	5

d-d: doba doświadczenia; d-d: days of experimental

TABELA 2. Średnie wartości parametrów hematologicznych krwi królików przed oraz po I i II iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP w dawce 0,02 mg/kg m.c.)

TABLE 2. Mean hematological parameter values in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

Parametr/ Parameter	Czas Time 0	Czas od I iniekcji Time after I injection						Czas od II iniekcji Time after II injection			
		godziny hours			doby days			godziny hours		doby days	
		4	6	24	4	7	21	4	24	3	7
RBC [10 ⁶ /μl]	5,89 ±0,70	5,93 ±0,43	6,44 ±0,44	5,18 ±0,42	5,21 ±0,52	4,87 ±0,41	4,87 ±0,91	5,03 ±0,44	4,64 ±1,04	4,58 ±0,43	5,84 ±1,21
HGB [g/dl]	13,07 ±1,36	13,08 ±0,80	13,97 ±1,02	12,05 ±1,15	11,47 ±1,21	11,23 ±0,71	12,15 ±1,21	11,80 ±0,43	11,73 ±1,59	11,85 ±0,83	12,89 ±1,66
HCT [%]	40,95 ±4,19	40,32 ±2,79	42,43 ±2,95	36,52 ±3,47	36,12 ±3,70	34,98 ±2,08	36,96 ±3,83	36,40 ±1,92	35,43 ±4,89	36,58 ±3,04	39,34 ±5,17
MCV [μm ³]	68,10 ±3,38	68,12 ±2,98	65,9 ±2,17	70,48 ±1,62	69,22 ±3,21	71,95 ±2,81	77,66 ±10,05	72,65 ±6,36	77,46 ±6,56	80,20 ±7,61	68,70 ±8,40
MCH [pg]	22,10 ±0,96	22,10 ±1,09	21,72 ±0,63	23,25 ±0,80	22,00 ±0,83	23,12 ±0,94	25,5 ±3,36	23,8 ±1,40	25,6 ±2,47	26,00 ±1,98	22,78 ±3,03
MCHC [%]	32,46 ±0,66	32,49 ±0,43	32,92 ±0,44	32,92 ±0,66	31,77 ±0,44	32,12 ±0,58	32,89 ±0,61	32,43 ±0,91	33,10 ±0,96	32,43 ±0,81	32,73 ±0,64
RDW [%]	15,61 ±1,78	16,32 ±1,78	14,68 ±0,97	17,23 ±0,93	18,9 ±2,89	16,93 ±3,38	16,06 ±2,52	20,14 ±0,57	20,56 ±0,59	20,14 ±0,50	20,33 ±0,39
WBC [10 ³ /μl]	13,56 ±2,92	13,84 ±2,76	13,45 ±1,87	12,23 ±1,95	13,53 ±3,29	12,15 ±3,41	11,06 ±3,53	15,48 ±2,20	13,18 ±3,61	11,03 ±3,33	9,14 ±1,73
NE [%]	46,47 ±12,34	49,56 ±8,92	52,17 ±14,48	44,00 ±8,51	22,17 ±9,30	42,83 ±9,91	37,50 ±11,82	23,50 ±3,32	34,00 ±5,16	35,50 ±10,75	44,44 ±9,89
LY [%]	49,79 ±12,73	47,67 ±8,47	46,00 ±13,74	51,50 ±8,67	74,83 ±9,35	52,67 ±9,63	58,29 ±13,44	73,50 ±3,87	63,25 ±3,95	62,00 ±10,71	51,45 ±9,79

Zakresy referencyjne parametrów/ Parameters reference range: the range of referential values

RBC: 4,29 - 7,50 x 10⁶/μl, HGB: 10,80 - 16,40 g/dl, HCT: 33,70 - 51,00 %, MCV: 62,90 - 80,00 μm³, MCH: 20,86 - 25,20 pg, MCHC: 30,80-33,90 %, RDW: 12,670-20,20 %, WBC 7,80-20,30 x 10³/μl, NE: 26,00 - 72,00 %, LY: 19,00 - 73,00 %, MO: 0,00 - 10,00 %, EO: 0,00 - 4,00 %, BA: 0,00 - 2,00 % NE: 3,35 - 11,64 x 10³/μl, LY: 1,56 - 12,99 x 10³/μl, MO: 0,00 - 0,82 x 10³/μl, EO: 0,00 - 0,65 x 10³/μl, BA: 0,00 - 0,31 x 10³/μl

TABELA 3. Porównawcza ocena zmian wartości parametrów hematologicznych krwi królików przed oraz po I i II iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP w dawce 0,02 mg/kg m.c.)

TABLE 3. Evaluation comparative changes hematological parameter values in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

Parametr Parameter	Czas od I iniekcji Time after I injection						Czas od II iniekcji Time after II injection			
	godziny hours			doby days			godziny hours		doby days	
	4	6	24	3	7	21	4	24	3	7
RBC [$10^6/\mu\text{l}$]	=	=	* ↓	* ↓	** ↓	*** ↓	* ↓	** ↓	*** ↓	# ↓
HGB [g/dl]	=	=	↓	** ↓	** ↓	* ↓	↓	↓	↓	=
HCT [%]	=	=	* ↓	* ↓	** ↓	* ↓	↓	* ↓	↓	=
MCV [μm^3]	=	=	=	=	* ↑	*** ↑	* ↑	*** ↑	*** ↑	=
MCH [pg]	=	=	* ↑	=	* ↑	*** ↑	** ↑	*** ↑	*** ↑	=
MCHC [%]	=	=	=	* ↓	=	* ↑	=	=	=	=
RDW [%]	↑	↓	* ↑	*** ↑	=	=	↑	↑	↑	↑
WBC [$10^3/\mu\text{l}$]	=	=	↓	=	↓	* ↓	* ↑	=	↓	*** ↓
NE [%]	=	=	=	*** ↓	=	* ↓	*** ↓	↓	↓	=
LY [%]	=	=	=	*** ↑	=	* ↑	*** ↑	* ↑	↑	=

↓ - obniżona wartość / value lower

↑ - podwyższona wartość / value increase

= wartość zbliżona do wartości wyjściowej / value comparable white relation to the primary value

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - poziomy istotności w porównaniu do wartości wyjściowej, czas 0

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$, - differences in relation to the primary value, time 0

$p < 0,001$ - poziom istotności w porównaniu do wartości w 21 dobie doświadczenia

$p < 0,001$ - difference in relation to the of 21 day value

TABELA 4. Średnie wartości parametrów układu krzepnięcia krwi królików przed oraz po I i II iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP w dawce 0,02 mg/kgm.c.)

TABLE 4. Mean coagulation system parameter values in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

Parametr/ Parameter	Czas Time 0	Czas od I iniekcji Time after I injection						Czas od II iniekcji Time after II injection			
		godziny hours			doby days			godziny hours		doby days	
		4	6	24	3	7	21	4	24	3	7
FB [g/l]	2,04	2,14	2,28	1,45	1,52	2,59	1,73	2,47	1,70	1,43	1,71
	±0,53	±0,26	±0,42	±0,24	±0,32	±0,64	±0,54	±0,79	±0,40	±0,25	±0,20
APTT [s]	27,40	24,56	25,17	26,80	27,50	23,00	25,19	18,90	23,53	28,70	23,79
	±6,42	±3,21	±3,82	±4,10	±6,15	±3,33	±4,33	±3,59	±3,30	±6,38	±3,66
PT [s]	7,53	7,18	6,33	7,15	7,23	6,38	6,61	6,38	6,26	6,60	6,65
	±1,89	±1,24	±0,18	±0,36	±0,77	±0,25	±0,42	±0,36	±0,14	±0,44	±0,21
PLT [10 ³ /μl]	450,94	386,67	411,56	499,33	457,83	601,67	481,29	502,15	498,25	486,50	341,00
	±103,5	±91,02	±95,17	±90,71	±57,40	±72,00	±55,84	±32,22	±187,0	±120,3	±98,00

Zakresy referencyjne parametrów/ Parameters reference range:

Fb: 1,12-3,14 g/l, APTT: 18,50-46,00 s, PT: 6,30-15,10 s, PLT: 208,00-671,00 x 10³/μl

TABELA 5. Porównawcza ocena zmian wartości parametrów układu krzepnięcia krwi królików po I i II iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP w dawce 0,02 mg/kgm.c.)

TABLE 5. Evaluation comparative changes coagulation system parameter values in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

Parametr Parameter	Czas od I iniekcji Time after I injection						Czas od II iniekcji Time after I injection			
	godziny hours			doby days			godziny hours		doby days	
	4	6	24	3	7	21	4	24	3	7
FB [s]	=	=	* ↓	* ↓	* ↑	* ↓	# ↑	↓	* ↓	↓
APTT [s]	=	=	=	=	=	=	* ↓	=	=	=
PT [s]	=	=	=	=	=	↓	↓	↓	↓	↓
PLT [$10^3/\mu\text{l}$]	=	=	=	=	** ↑	=	=	=	=	** ↓ ###

↓ - obniżona wartość / value lower

↑ - podwyższona wartość / value increase

= wartość zbliżona do wartości wyjściowej / value comparable white relation to the primary value

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - poziomy istotności w porównaniu do wartości wyjściowej, czas 0

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - differences in relation to the primary value, time 0

$p < 0,001$ - poziom istotności w porównaniu do wartości w 21 dobie doświadczenia

$p < 0,001$ - difference in relation to the of 21 day value

TABELA 6. Średnie wartości parametrów biochemicznych krwi królików po
I i II iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP w dawce 0,02 mg/kg m.c.)

TABLE 6. Mean biochemical parameters values in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimmer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

Parametr/ Parameter	Czas Time 0	Czas od I iniekcji Time after I injection						Czas od II iniekcji Time after II injection			
		godziny hours			doby days			godziny hours		doby days	
		4	6	24	3	7	21	4	24	3	7
TP [g/dl]	6,29 ±0,90	6,87 ±1,39	7,56 ±0,99	6,96 ±0,45	6,74 ±0,51	4,74 ±0,70	6,12 ±1,32	6,62 ±0,78	6,12 ±0,52	6,83 ±0,54	5,20 ±1,01
Alb [g/dl]	5,05 ±0,82	5,17 ±0,45	5,65 ±0,43	5,37 ±0,49	5,38 ±0,62	3,73 ±0,47	4,86 ±0,97	5,28 ±0,61	5,03 ±0,46	5,10 ±0,14	4,30 ±0,91
ALP [U/l]	37,06 ±13,26	33,20 ±9,86	18,67 ±6,25	45,00 ±12,39	48,30 ±24,00	42,33 ±13,49	36,85 ±18,36	34,50 ±19,84	55,75 ±17,97	35,33 ±10,69	28,30 ±15,46
AST [U/l]	30,36 ±25,49	22,10 ±8,79	13,17 ±5,34	40,40 ±19,71	40,00 ±21,43	24,17 ±13,75	26,80 ±17,02	28,00 ±9,31	48,75 ±10,97	32,75 ±11,00	18,11 ±10,66
ALT [U/l]	75,52 ±52,67	66,60 ±19,87	56,50 ±13,81	98,00 ±16,67	103,17 ±54,32	37,33 ±11,04	63,05 ±30,42	90,75 ±28,27	95,25 ±17,15	69,00 ±12,27	41,22 ±21,64
GTP [U/l]	10,85 ±5,44	6,90 ±1,52	7,83 ±1,47	14,60 ±3,36	12,67 ±3,88	8,50 ±2,35	9,75 ±4,34	10,25 ±2,75	13,75 ±6,50	11,25 ±1,71	8,44 ±3,00
C3 [mg/dl]	32,06 ±7,46	33,42 ±7,14	34,35 ±5,82	29,55 ±5,95	34,95 ±11,20	30,15 ±12,32	36,13 ±9,47	30,68 ±6,44	36,13 ±9,47	37,68 ±8,60	24,45 ±7,80
C4 [mg/dl]	6,20 ±2,44	6,93 ±3,35	9,10 ±1,64	5,15 ±1,11	4,85 ±0,78	5,02 ±0,42	5,18 ±1,11	5,08 ±1,67	5,29 ±1,54	5,74 ±0,76	4,79 ±0,59
IgG [mg/dl]	508,09 ±158,2	491,00 ±163,0	719,33 ±111,9	488,00 ±58,19	525,67 ±138,6	351,17 ±111,6	471,00 ±152,9	508,50 ±122,8	407,75 ±78,17	607,75 ±189,11	373,11 ±96,30
IgM [mg/dl]	85,85 ±46,53	57,59 ±31,52	31,67 ±10,68	133,40 ±10,99	138,23 ±35,20	113,12 ±40,48	48,73 ±19,90	43,23 ±12,50	26,65 ±7,00	39,63 ±16,72	67,68 ±18,96

Zakresy referencyjne parametrów/ Parameters reference range: TP: 3,72 - 8,12 g/dl,
Alb: 2,90 - 6,30 g/dl, ALP: 17,00 - 64,00 U/l, AST: 6,00 - 111,00 U/l,
ALT: 25,00 - 265,00 U/l, GTP: 6,00 - 27,00 U/l, C3:16,20 - 47,40 mg/dl,
C4:2,91 - 12,70 mg/dl, IgG: 214,00- 921,00 mg/dl, IgM: 21,30-217,50 mg/dl

TABELA 7. Porównawcza ocena zmian wartości parametrów biochemicznych krwi królików po I i II iniekcji dimeru lizozymu (Lydium-KLP w dawce 0,02 mg/kg m.c.)

TABLE 7. Evaluation comparative changes biochemical parameter values in the rabbit blood before (primary value, time 0) and after injection of lysozyme dimer (0,02 mg/kg b.w.) in time function

Parametr Parameters	Czas od I iniekcji/ Time at I injection						Czas od II iniekcji/ Time at II injection			
	godziny hours			doby days			godziny hours		doby days	
	4	6	24	3	7	21	4	24	3	7
TP [g/dl]	↑	** ↑	↑	↑	*** ↓	=	↑	=	↑	** ↓
Alb [g/dl]	=	=	=	=	** ↓	↓	=	=	=	* ↓
ALP [U/l]	=	** ↓	↑	↑	↑	=	=	# ↑	=	↓
AST [U/l]	↓	↓	↑	↑	↓	↓	↓	↑		↓
ALT [U/l]	↓	↓	↑	↑	↓	↓	↑	↑	↓	↓
GTP [U/l]	↓	↓	↑	↑	↓	=	=	↑	=	↓
C3 [mg/dl]	=	=	↓	=	=	=	↑	=	=	** ↓
C4 [mg/dl]	↑	** ↑	↓	↓	↓	↓	=	↓	=	↓
IgG [mg/dl]	↓	** ↑	=	↑	* ↓	↓	↑	↓	↑	* ↓
IgM [mg/dl]	↓	** ↓	* ↑	* ↑	↑	** ↓	↓	* ↓	↓	↑

↓ - obniżona wartość/ value lower

↑ - podwyższona wartość/ value increase

= wartość zbliżona do wartości wyjściowej/ value comparable white relation to the primary value

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ poziom istotności w porównaniu do wartości wyjściowej, czas 0/ differences in relation to the primary value, time 0

